

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
 United States Patent and Trademark  
 Office  
 Box PCT  
 Washington, D.C. 20231  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)

02 October 2000 (02.10.00)

International application No.

PCT/DE00/00232

Applicant's or agent's file reference

M 4357 Wd

International filing date (day/month/year)

26 January 2000 (26.01.00)

Priority date (day/month/year)

28 January 1999 (28.01.99)

Applicant

SCHULZE-GARG, Christine et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

23 August 2000 (23.08.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
 34, chemin des Colombettes  
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

R. Forax

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

**AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG  
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG  
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00232

3) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T10 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

4) Ansprüche 1-5 (teilweise), 6, 7-13 (teilweise), 14, 15-18 (teilweise)

WAP-T-NP6, WAP-T-NP8, WAP-T-NP10 Mäuse, Verfahren zur Bereitstellung der Mäuse und Verwendung der Mäuse zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

Aus den folgenden Gründen hängen diese Erfindungen nicht so zusammen, daß sie eine einzige allgemeine erfinderische Idee verwirklichen (Regel 13.1 PCT):

Die unabhängigen Ansprüche 1, 9, 17 und 18 betreffen transgene Mäuse mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ, die ein aktivierbares Onkogen enthalten, bevorzugterweise, ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen unter der Kontrolle des WAP- Promoters, Methoden zur Herstellung der Mäuse und therapeutische Anwendungen.

Der technische Zusammenhang zwischen den beanspruchten Mäusen ist, daß sie alle durch induzierbarem DICS charakterisiert sind und ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthalten.

D1 beschreibt transgene Mäuse, die das SV40 T Antigen unter der Kontrolle des WAP Promoters exprimieren. Die Analyse dieser Mäuse zeigt, daß sie ein Karzinom der weiblichen Brustdrüse entwickeln (S. 2103, Abstract, S. 2104-05). (Die gleiche Argumentation hätte auch basierend auf dem Inhalt von D2 geführt werden können.)

Daraus folgt, daß der Gegenstand des unabhängigen Anspruchs 1 und somit auch der technische Zusammenhang zwischen den unabhängigen Ansprüchen bereits bekannt ist. Die erforderliche Einheitlichkeit der Erfindung (Regel 13.1 PCT) ist damit insofern nicht mehr gegeben, als zwischen den Gegenständen der oben genannten Erfindungen kein technischer Zusammenhang im Sinne der Regel 13.2 PCT besteht, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt.

**AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG  
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG  
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00232

---

Da WAP-T-NP Mäuse, die spezifisch das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus exprimieren, nicht in der Literatur beschrieben sind, werden die verschiedenen Mauslinien (WAP-T-NP-6, -8 und -10) als eine Erfindung betrachtet.

Der Anmelder wird dazu aufgefordert anzugeben, welche der oben genannten Erfindungen geprüft werden soll, und die Ansprüche entsprechend einzuschränken oder zusätzliche Gebühren zu zahlen. Geht keine Erwiderung des Anmelders im angegebenen Zeitraum ein, so erstellt die Behörde den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht über die Teile der internationalen Anmeldung, die sich ihrer Auffassung nach auf die Haupterfindung zu beziehen scheinen, in diesem Falle Erfindung 4 (Art. 34(3)(a) PCT).

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

HUBER, Bernard et al  
Huber & Schüssler  
Truderinger Strasse 246  
81825 München  
ALLEMAGNE

## PCT

### SCHRIFTLICHER BESCHIED (Regel 66 PCT)

Absendedatum  
(Tag/Monat/Jahr) 13.02.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts  
M 4357 Wd

**ANTWORT FÄLLIG** innerhalb von **2 Monat(en)**  
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE00/00232

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)  
26/01/2000

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)  
28/01/1999

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK  
C12N15/00

Anmelder

MICE & MORE GMBH & CO. KG et al.

1. Dieser Bescheid ist der **erste** schriftliche Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde
2. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheides
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

3. Der Anmelder wird **aufgefordert**, zu diesem Bescheid **Stellung zu nehmen**

**Wann?** Siehe oben genannte Frist. Der Anmelder kann vor Ablauf dieser Frist bei der Behörde eine Verlängerung beantragen, siehe Regel 66.2 d).

**Wie?** Durch Einreichung einer schriftlichen Stellungnahme und gegebenenfalls von Änderungen nach Regel 66.3. Zu Form und Sprache der Änderungen, siehe Regeln 66.8 und 66.9.

**Dazu:** Hinsichtlich einer zusätzlichen Möglichkeit zur Einreichung von Änderungen, siehe Regel 66.4. Hinsichtlich der Verpflichtung des Prüfers, Änderungen und/oder Gegenvorstellungen zu berücksichtigen, siehe Regel 66.4 bis. Hinsichtlich einer formlosen Erörterung mit dem Prüfer, siehe Regel 66.6.

**Wird keine Stellungnahme eingereicht**, so wird der internationale vorläufige Prüfungsbericht auf der Grundlage dieses Bescheides erstellt.

4. Der Tag, an dem der internationale vorläufige Prüfungsbericht gemäß Regel 69.2 spätestens erstellt sein muß, ist der: 28/05/2001.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragte Behörde:



Europäisches Patentamt  
D-80298 München  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter / Prüfer

Trommsdorff, M

7361

Formalsachbearbeiter (einschl. Fristverlängerung)

Guerin, A

Tel. +49 89 2399 8061



**I. Grundlage des Bescheids**

1. Dieser Bescheid wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Bescheids als "ursprünglich eingereicht"*):

**Beschreibung, Seiten:**

1-10                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-18                      ursprüngliche Fassung

**Zeichnungen, Blätter:**

1/9-9/9                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbaren **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

#### **IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren (Formblatt PCT/IPEA/405) hat der Anmelder:
- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
  - ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
  - ☒ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
  - ☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern:
3. Daher wurde zur Erstellung dieses Bescheids eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
- ☒ alle Teile.
  - ☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

#### **V. Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung
- |                                |           |                  |
|--------------------------------|-----------|------------------|
| Neuheit (N)                    | Ansprüche | 1-5, 7, 9-13, 15 |
| Erfinderische Tätigkeit (IS)   | Ansprüche | 6, 14            |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ansprüche | 1-18: no opinion |

2. Unterlagen und Erklärungen:  
**siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**

## **1. Zitierte Dokumente**

In diesem Bescheid werden folgende, im Recherchenbericht zitierte Dokumente (D) genannt. Die Dokumente D8 und D9 wurden im internationalen Recherchenbericht nicht angegeben. Kopien der Dokumente liegen bei. Die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten:

- D1: TZENG, Y.J. ET AL.: 'SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors.' ONCOGENE, Bd. 16, Nr. 16, 23. April 1998 (1998-04-23), S.2103-14,
- D2: ROBINSON, G.W. ET AL.: 'Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators.' DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Bd. 206, Nr. 2, 1996, S.159-168
- D3: WO 97 39117 A (UNIV LIVERPOOL ;RUDLAND PHILIP SPENCER (GB); BARRACLOUGH BARRY ROG) 23. Oktober 1997 (1997-10-23)
- D4: JÄGER, R. ET AL.: 'Overexpression of Bcl-2 inhibits alveolar cell apoptosis during involution and accelerates c-myc-induced tumorigenesis of the mammary gland in transgenic mice.' ONCOGENE, Bd. 15, Nr. 15, 9. Oktober 1997 (1997-10-09), S. 1787-95
- D5: VAN DER MOST, R. G. ET AL.: 'Ananalysis of cytotoxic T cell response to dominant and subdominant epitopes during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection.' JOURNAL OF IMMUNOLOGY, Bd. 157, 1996, S. 5543-54
- D7: SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: 'A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ of the mammary gland. 'ONCOGENE, Bd.19, Nr.8, 21Feb 2000 (2000-02-21), S.1028-37
- D8: Tzeng, Yin-Jeh et al.: Breast cancer formation in transgenic animals induced by the whey acidic protein SV40 T antigen (WAP-SV-T) hybrid gene. Oncogene.Bd. 8, 1993, S.1965-71
- D9: Santarelli, R. et al.: SV40 T-antigen induces breast cancer formation with a high efficiency in lactating and virgin WAP-SV-T transgenic animals but with a low efficiency in ovariectomized animals.Oncogene.Bd. 12, 1996, S.495-505

## **2. Inhalt der Anmeldung**

Die vorliegende Anmeldung betrifft transgene Mäuse, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Gen enthalten und ein induzierbares ductales Karzinom in situ (DCIS) vorweisen. Beschrieben sind Mäuse, die das SV-40 T-Antigen und das n118 Epitop des LCM- Virus unter der Kontrolle eines "whey acidic protein" (WAP) Promoters exprimieren. Ferner sind Methoden zur Herstellung dieser Mäuse und ihre Anwendung für diagnostische Zwecke beschrieben.

**3. Zu Punkt IV**

**Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

Ein Einwand wegen mangelnder Einheit wurde vom Prüfer erhoben. Der Anmelder hat unter Widerspruch für die Prüfung der vier Erfindungen bezahlt und gleichzeitig neue Ansprüche eingereicht. Da dies im PCT Verfahren nicht vorgesehen ist, wurden die ursprünglich eingereichten Ansprüche geprüft. Der Anmelder hat selbstverständlich die Möglichkeit nach Erhalt dieses schriftlichen Bescheids die Ansprüche zu ändern (Art. 34 (b) und (d) PCT).

**4. Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

- 4.1. D1 und D2 beschreiben WAP-SV40-T/t transgene Mäuse, die das SV40-T/t Antigen unter der Kontrolle des WAP Promoters exprimieren und mit dem gleichen WAP-SV40 T-Ag Konstrukt generiert wurden, wie die Tiere in der Anmeldung (wie von den Anmeldern selbst im später veröffentlichten Dokument D7 gezeigt wird, siehe S. 1036 und Material and Methods). Da der WAP Promoter spezifisch durch laktotrope Hormone (wie z.B. Oestrogen, Progesteron, Prolaktin, Insulin und Glukokortikoide) aktiviert wird, kann die Expression des SV40 T-Ag spezifisch durch diese Hormone induziert werden, wenn sie im Körper der transgenen Tiere ausgeschüttet werden (z. B. während der Schwangerschaft oder Laktationsperiode).

In D1 zeigt die Analyse der Mäuse, daß sie nach der ersten Laktation ein Karzinom der weiblichen Brustdrüse entwickeln (S. 2103, Abstract, S. 2104-05). Somit sind Säugetiere mit induzierbarem duktalem Karzinom, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthalten, bereits in D1 beschrieben. (Siehe auch weitere Veröffentlichungen der gleichen Arbeitsgruppe D8: S. 1965-68 und D9: S. 497-99).

Es ist dem Fachmann bekannt (und auch in D7 nochmals beschrieben, S. 1036), daß bei der Herstellung transgener Mäuse immer eine Palette von Phänotypen entstehen kann, abhängig vom genetischen Hintergrund der verwendeten Mäuse, der Integrationsstelle des Transgens und der Anzahl der Kopien des Transgens. Es

ist also zu erwarten, daß wenn genug transgene Tiere analysiert werden, jeder Phänotyp vertreten ist. Auch wenn in D1 die WAP-T-Ag transgenen Mäuse nicht speziell auf DCIS histologisch untersucht wurden, muss zumindest ein Teil dieser Mäuse dieses spezifische Vorstadium von Mammarkarzinom vorgewiesen haben, da diese Mäuse durch die exakt gleichen technischen Merkmale charakterisiert sind wie die WAP-T-Ag Mäuse der Anmeldung.

Anspruch 4 betrifft ein Onkogen mit einem "starken T-Zell Epitop". Dieser Begriff ist vage und umfaßt in den Augen des Fachmanns durchaus auch das SV40-T-Antigen, da dieses Epitop auch eine spezifische Immunreaktion bewirken kann. Somit ist der Inhalt von D1 neuheitsschädigend für die Ansprüche 1-5 und 7 (Art. 33(1) und (2) PCT).

- 4.2. D3 beschreibt verschiedene transgene Tiere und entsprechende Zelllinien. Unter anderem werden Ratten beschrieben, die ein transgenes MMTVLTR-TGF $\alpha$  Gen exprimieren. Der MMTVLTR Promoter ist wie der WAP-Promoter spezifisch für die Milchdrüsen und wird durch die, während der Schwangerschaft ausgeschütteten Hormone aktiviert. Die Ratten, die das TGF $\alpha$  Onkogen exprimieren, wurden histologisch untersucht und weisen verschiedene Tumorarten auf, unter anderem DICS oder auch weiter fortgeschrittene Tumore (S. 51, Z. 26- S. 55, Z. 28).

Das Gleiche gilt für die MMTVLTR-c-erb-2 transgenen Tiere, die auch teilweise DICS vorweisen (S. 55, Z. 28- S.59, Z. 20 und Fig. 8f).

Somit ist D3 neuheitsschädigend für den Gegenstand der Ansprüche 1, 2 und 7 (Art. 33(1) und (2) PCT).

D3 beschreibt übrigens auch MMTVLTR-tsA58 transgene Tiere, die Temperatur abhängig das SV40 T Antigen in der Brustdrüse exprimieren, die Analyse des Phänotyps dieser Tiere wird jedoch nicht ausführlicher beschrieben (S. 21, Z.25- S. 29, Z.18).

- 4.3. Die Herstellung transgener Mäuse ist ein Standard Verfahren, das unter Fachmenschen gut bekannt ist und heutzutage keine technischen Schwierigkeiten mehr bereitet. Die Herstellung transgener Tiere, die ein Onkogen exprimieren, ist auch in D8 (S. 1970), D3 (S. 13, Z. 15- 30) und D4 (S. 1793) beschrieben.

Wie bereits erwähnt, wurden in D3 die MMTVLTR-TGF $\alpha$  transgenen Tiere auch auf DCIS untersucht.

Demzufolge, ist der Gegenstand der Ansprüche 9-13 und 15 nicht neu (Art. 33(1)

und (2) PCT).

- 4.4. Ansprüche 6 und 14 betreffen transgene Mäuse, die ein Fusionsprotein exprimieren, das das SV40 T-Ag und das n118 Epitop des LCM-Virus umfaßt und deren Herstellung.

Solche transgenen Tiere sind im Stand der Technik nicht beschrieben.

Somit ist der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 neu (Art. 3(1) und (2) PCT).

Auch wenn D1-D4 transgene Mäuse beschreiben, die ein Onkogen exprimieren, weist keines dieser Dokumente auf die spezifische Herstellung von transgenen Mäusen, die ein n118 Epitop des LCM- Virus exprimieren, hin.

Dennoch ist aus folgenden Gründen nicht klar, inwiefern der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 auf erfinderischer Tätigkeit beruht (Artikel 33(3) PCT):

Die Zielsetzung dieser Anmeldung scheint die Herstellung eines transgenen Tiermodells zur Untersuchung von DCIS zu sein. Es stellt sich die Frage, was für Vorteile die transgenen Tiere die das n118 Epitop exprimieren, gegenüber den Tieren, die nur das SV40 T-Ag exprimieren, haben und ob sie zusätzliche Erkenntnisse zur Lösung des Problems beitragen, da kein erheblicher Unterschied zwischen dem Phänotyp der WAP-T-NP und WAP-T Mäuse erkennbar ist.

Somit scheint der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 bis auf weiteres nicht erfinderisch zu sein (Art. 33(1) und (3) PCT).

- 4.5. Ansprüche 17 und 18 betreffen die Verwendung dieser transgenen Mäuse zur Untersuchung von DCIS und zur Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika.

Auch wenn transgene Mäuse mit den gleichen technischen Merkmalen, wie die beanspruchten Mäuse, im Stand der Technik bekannt sind (siehe oben), wurden diese Mäuse nie als Tiermodell für DCIS erkannt. In den bereits zitierten Dokumenten D1-D4 liegt bei der Analyse der transgenen Tiere der Fokus viel mehr auf den ausgewachsenen Mammarkarzinomen als auf den früheren Stadien der Erkrankung. Demzufolge, ist die Verwendung dieser Mäuse zur Untersuchung für DCIS neu und erfinderisch (Art. 33(1)-(3) PCT).

**5. Zu Punkt VII**

**Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

- 5.1. Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

**6. Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

- 6.1. Der in den Ansprüchen 4 und 12 benutzte Ausdruck "starkes T-Zell Epitop" ist vage und unklar und läßt den Leser über die Bedeutung des betreffenden technischen Merkmals im Ungewissen. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands dieser Ansprüche nicht klar ist (Artikel 6 PCT).
- 6.2. Der in den Ansprüchen 6 und 14 benutzte Begriff "n118 Epitop" hat keine allgemein anerkannte Bedeutung. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands dieser Ansprüche nicht klar ist. Die Sequenz dieses Epitops sollte in diesen Ansprüchen angegeben werden (Artikel 6 PCT).  
Desweiteren, wurde die pWAP-T-NP DNA im Gegensatz zu den Behauptungen des Anmelders (siehe S. 7, Zeilen 23-27) nicht hinterlegt (Regel 13 bis PCT). Der Prüfer konnte die angegebene DSM Nummer bei der DSMZ nicht finden.  
Die unterschiedlichen Mauslinien wurden auch nicht hinterlegt.
- 6.3. Die Ansprüche 8 und 16 enthalten Bezugnahmen auf Figuren. Gemäß Regel 6.2 a) PCT dürfen Ansprüche nur dann Bezugnahmen enthalten, wenn dies unbedingt erforderlich ist, was hier nicht der Fall ist. Außerdem betreffen diese Ansprüche Mäuse und ihre Herstellung, obwohl die Abbildungen, auf die sich diese Ansprüche beziehen, nur Zellen zeigen.
- 6.4. Die meisten Ansprüche beziehen sich auf Säugetiere ohne genauere Definition, das heißt ohne, daß der Mensch davon ausgeschlossen wird. Sie beziehen sich somit auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

HUBER, Bernard et al  
Huber & Schüssler  
Truderinger Strasse 246  
81825 München  
ALLEMAGNE

Huber & Schüssler  
Patentanwälte

1 U. APR. 2001

Frist: .....

## PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG  
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNGSBERICHTS

(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum  
(Tag/Monat/Jahr)

09.04.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts  
M 4357 Wd

### WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE00/00232

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)  
26/01/2000

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)  
28/01/1999

Anmelder

MICE & MORE GMBH & CO. KG et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

#### 4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt  
D-80298 München  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Emslander, S

Tel. +49 89 2399-8718



# VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

11 APR 2001

PCT

PCT

## INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

47

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>M 4357 Wd</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE00/00232</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>26/01/2000</b>	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>28/01/1999</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>C12N15/00</b>		
Anmelder <b>MICE &amp; MORE GMBH &amp; CO. KG et al.</b>		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 12 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  <b>23/08/2000</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  <b>09.04.2001</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  <b>Trommsdorff, M</b>  Tel. Nr. +49 89 2399 7361



**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-10                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-16                      eingegangen am                      04/12/2000    mit Schreiben vom                      04/12/2000

**Zeichnungen, Blätter:**

1/9-9/9                      ursprüngliche Fassung

**Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:**

1, eingereicht mit Schreiben vom 26.05.00.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,       Seiten:
- ☐ Ansprüche,        Nr.:
- ☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 1-18.

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
  - ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
  - ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
  - ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
  - ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

**IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:
  - ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
  - ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
  - ☒ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
  - ☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
  - ☐ erfüllt ist
  - ☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:  
**siehe Beiblatt**
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
  - ☒ alle Teile.
  - ☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	6, 8, 14, 16-18
	Nein: Ansprüche	1-5, 7, 9-13, 15
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	8, 16-18
	Nein: Ansprüche	1-7, 9-15
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-18: no opinion

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmt Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**

## **1. Zitierte Dokumente**

In diesem Bescheid werden folgende, im Recherchenbericht zitierte Dokumente (D) genannt. Die Dokumente D8 und D9 wurden im internationalen Recherchenbericht nicht angegeben. Kopien der Dokumente liegen bei. Die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten:

- D1: TZENG, Y.J. ET AL.: 'SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors.' ONCOGENE, Bd. 16, Nr. 16, 23. April 1998 (1998-04-23), S.2103-14
- D2: ROBINSON, G.W. ET AL.: 'Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators.' DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Bd. 206, Nr. 2, 1996, S.159-168
- D3: WO 97 39117 A (UNIV LIVERPOOL ;RUDLAND PHILIP SPENCER (GB); BARRACLOUGH BARRY ROG) 23. Oktober 1997 (1997-10-23)
- D4: JÄGER, R. ET AL.: 'Overexpression of Bcl-2 inhibits alveolar cell apoptosis during involution and accelerates c-myc-induced tumorigenesis of the mammary gland in transgenic mice.' ONCOGENE, Bd. 15, Nr. 15, 9. Oktober 1997 (1997-10-09), S. 1787-95
- D5: VAN DER MOST, R. G. ET AL.: 'Analysis of cytotoxic T cell response to dominant and subdominant epitopes during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection.' JOURNAL OF IMMUNOLOGY, Bd. 157, 1996, S. 5543-54
- D7: SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: 'A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ of the mammary gland.' ONCOGENE, Bd.19, Nr.8, 21Feb 2000 (2000-02-21), S.1028-37
- D8: Tzeng, Yin-Jeh et al.: Breast cancer formation in transgenic animals induced by the whey acidic protein SV40 T antigen (WAP-SV-T) hybrid gene. Oncogene.Bd. 8, 1993, S.1965-71
- D9: Santarelli, R. et al.: SV40 T-antigen induces breast cancer formation with a high efficiency in lactating and virgin WAP-SV-T transgenic animals but with a low efficiency in ovariectomized animals.Oncogene.Bd. 12, 1996, S.495-505

## **2. Inhalt der Anmeldung**

Die vorliegende Anmeldung betrifft transgene Mäuse, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Gen enthalten und ein induzierbares ductales Karzinom in situ (DCIS) vorweisen. Beschrieben sind Mäuse, die das SV-40 T-Antigen und das n118 Epitop des LCM- Virus unter der Kontrolle eines "whey acidic protein" (WAP) Promoters exprimieren. Ferner sind Methoden zur Herstellung dieser Mäuse und ihre Anwendung für diagnostische Zwecke beschrieben.

**3. Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

- 3.1. Die Ansprüche 1-18 beziehen sich auf Säugetiere ohne genauere Definition, das heißt ohne, daß der Mensch davon ausgeschlossen wird, oder auf deren Herstellung. Sie beziehen sich somit auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands der Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

**4. Zu Punkt IV**

**Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

Die verschiedenen Erfindungen sind:

1) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T1 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

2) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T2 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

3) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T10 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

4) Ansprüche 1-5 (teilweise), 6, 7-13 (teilweise), 14, 15-18 (teilweise)

WAP-T-NP6, WAP-T-NP8, WAP-T-NP10 Mäuse, Verfahren zur Bereitstellung der Mäuse und Verwendung der Mäuse zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

Aus den folgenden Gründen hängen diese Erfindungen nicht so zusammen, daß sie eine einzige allgemeine erfinderische Idee verwirklichen (Regel 13.1 PCT):

Die unabhängigen Ansprüche 1, 9, 17 und 18 betreffen transgene Mäuse mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ, die ein aktivierbares Onkogen enthalten, bevorzugterweise, ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen unter der Kontrolle des WAP- Promoters, Methoden zur Herstellung der Mäuse und therapeutische Anwendungen.

Der technische Zusammenhang zwischen den beanspruchten Mäusen ist, daß sie alle durch induzierbarem DICS charakterisiert sind und ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthalten.

D1 beschreibt transgene Mäuse, die das SV40 T Antigen unter der Kontrolle des WAP Promoters exprimieren. Die Analyse dieser Mäuse zeigt, daß sie ein Karzinom der weiblichen Brustdrüse entwickeln (S. 2103, Abstract, S. 2104-05). (Die gleiche Argumentation hätte auch basierend auf dem Inhalt von D2 geführt werden können.)

Daraus folgt, daß der Gegenstand des unabhängigen Anspruchs 1 und somit auch der technische Zusammenhang zwischen den unabhängigen Ansprüchen bereits bekannt ist. Die erforderliche Einheitlichkeit der Erfindung (Regel 13.1 PCT) ist damit insofern nicht mehr gegeben, als zwischen den Gegenständen der oben genannten Erfindungen kein technischer Zusammenhang im Sinne der Regel 13.2 PCT besteht, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt.

Da WAP-T-NP Mäuse, die spezifisch das n18 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus exprimieren, nicht in der Literatur beschrieben sind, werden die verschiedenen Mauslinien (WAP-T-NP-6, -8 und -10) als eine Erfindung betrachtet.

Der Anmelder wurde dazu aufgefordert anzugeben, welche der oben genannten Erfindungen geprüft werden soll, und die Ansprüche entsprechend einzuschränken oder zusätzliche Gebühren zu zahlen.

Der Anmelder hat unter Widerspruch für die Prüfung der vier Erfindungen bezahlt und gleichzeitig neue Ansprüche eingereicht. Da dies im PCT Verfahren nicht vorgesehen ist, wurden die ursprünglich eingereichten Ansprüche geprüft. (Desweiteren ergab eine Analyse der neu eingereichten Ansprüche, daß die für den ursprünglichen Anspruchsatz gemachten Einwände- mutatis mutandis- auf

diesen Anspruchsatz anzuwenden sind, sodaß auch dieser Satz uneinheitlich ist und sich nur in anderen Gruppen von Ansprüchen aufgliedert.)

**5. Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

- 5.1. D1 und D2 beschreiben WAP-SV40-T/t transgene Mäuse, die das SV40-T/t Antigen unter der Kontrolle des WAP Promoters exprimieren und mit dem gleichen WAP-SV40 T-Ag Konstrukt generiert wurden, wie die Tiere in der Anmeldung (wie von den Anmeldern selbst im später veröffentlichten Dokument D7 gezeigt wird, siehe S. 1036 und Material and Methods). Da der WAP Promoter spezifisch durch laktotrope Hormone (wie z.B. Oestrogen, Progesteron, Prolaktin, Insulin und Glukokortikoide) aktiviert wird, kann die Expression des SV40 T-Ag spezifisch durch diese Hormone induziert werden, wenn sie im Körper der transgenen Tiere ausgeschüttet werden (z. B. während der Schwangerschaft oder Laktationsperiode).

In D1 zeigt die Analyse der Mäuse, daß sie nach der ersten Laktation ein Karzinom der weiblichen Brustdrüse entwickeln (S. 2103, Abstract, S. 2104-05). Somit sind Säugetiere mit induzierbarem duktalem Karzinom, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthalten, bereits in D1 beschrieben. (Siehe auch weitere Veröffentlichungen der gleichen Arbeitsgruppe D8: S. 1965-68 und D9: S. 497-99).

Es ist dem Fachmann bekannt (und auch in D7 nochmals beschrieben, S. 1036), daß bei der Herstellung transgener Mäuse immer eine Palette von Phänotypen entstehen kann, abhängig vom genetischen Hintergrund der verwendeten Mäuse, der Integrationsstelle des Transgens und der Anzahl der Kopien des Transgens. Es ist also zu erwarten, daß wenn genug transgene Tiere analysiert werden, jeder Phänotyp vertreten ist. Auch wenn in D1 die WAP-T-Ag transgenen Mäuse nicht speziell auf DCIS histologisch untersucht wurden, muss zumindest ein Teil dieser Mäuse dieses spezifische Vorstadium von Mammarkarzinom vorgewiesen haben, da diese Mäuse durch die exakt gleichen technischen Merkmale charakterisiert sind wie die WAP-T-Ag Mäuse der Anmeldung.

Anspruch 4 betrifft ein Onkogen mit einem "starken T-Zell Epitop". Dieser Begriff

ist vage und umfaßt in den Augen des Fachmanns durchaus auch das SV40-T-Antigen, da dieses Epitop auch eine spezifische Immunreaktion bewirken kann. Somit ist der Inhalt von D1 neuheitsschädigend für die Ansprüche 1-5 und 7 (Art. 33(1) und (2) PCT).

- 5.2. D3 beschreibt verschiedene transgene Tiere und entsprechende Zelllinien. Unter anderem werden Ratten beschrieben, die ein transgenes MMTVLTR-TGFa Gen exprimieren. Der MMTVLTR Promoter ist wie der WAP-Promoter spezifisch für die Milchdrüsen und wird durch die, während der Schwangerschaft ausgeschütteten Hormone aktiviert. Die Ratten, die das TGFa Onkogen exprimieren, wurden histologisch untersucht und weisen verschiedene Tumorarten auf, unter anderem DICS oder auch weiter fortgeschrittene Tumore (S. 51, Z. 26- S. 55, Z. 28). Das Gleiche gilt für die MMTVLTR-c-erb-2 transgenen Tiere, die auch teilweise DICS vorweisen (S. 55, Z. 28- S.59, Z. 20 und Fig. 8f). Somit ist D3 neuheitsschädigend für den Gegenstand der Ansprüche 1, 2 und 7 (Art. 33(1) und (2) PCT).

D3 beschreibt übrigens auch MMTVLTR-tsA58 transgene Tiere, die Temperaturabhängig das SV40 T Antigen in der Brustdrüse exprimieren, die Analyse des Phänotyps dieser Tiere wird jedoch nicht ausführlicher beschrieben (S. 21, Z.25- S. 29, Z.18).

- 5.3. Die Herstellung transgener Mäuse ist ein Standard Verfahren, das unter Fachmenschen gut bekannt ist und heutzutage keine technischen Schwierigkeiten mehr bereitet. Die Herstellung transgener Tiere, die ein Onkogen exprimieren, ist auch in D8 (S. 1970), D3 (S. 13, Z. 15- 30) und D4 (S. 1793) beschrieben. Wie bereits erwähnt, wurden in D3 die MMTVLTR-TGFa transgenen Tiere auch auf DCIS untersucht. Demzufolge, ist der Gegenstand der Ansprüche 9-13 und 15 nicht neu (Art. 33(1) und (2) PCT).

- 5.4. Ansprüche 6 und 14 betreffen transgene Mäuse, die ein Fusionsprotein exprimieren, das das SV40 T-Ag und das n118 Epitop des LCM-Virus umfaßt und deren Herstellung. Solche transgenen Tiere sind im Stand der Technik nicht beschrieben. Somit ist der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 neu (Art. 3(1) und (2) PCT).

Auch wenn D1-D4 transgene Mäuse beschreiben, die ein Onkogen exprimieren, weist keines dieser Dokumente auf die spezifische Herstellung von transgenen Mäusen, die ein n118 Epitop des LCM- Virus exprimieren, hin.

Dennoch ist aus folgenden Gründen nicht klar, inwiefern der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 auf erfinderischer Tätigkeit beruht (Artikel 33(3) PCT):

Die Zielsetzung dieser Anmeldung scheint die Herstellung eines transgenen Tiermodells zur Untersuchung von DCIS zu sein. Es stellt sich die Frage, was für Vorteile die transgenen Tiere die das n118 Epitop exprimieren, gegenüber den Tieren, die nur das SV40 T-Ag exprimieren, haben und ob sie zusätzliche Erkenntnisse zur Lösung des Problems beitragen, da kein erheblicher Unterschied zwischen dem Phänotyp der WAP-T-NP und WAP-T Mäuse erkennbar ist.

Somit scheint der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 bis auf weiteres nicht erfinderisch zu sein (Art. 33(1) und (3) PCT).

- 5.5. Ansprüche 17 und 18 betreffen die Verwendung dieser transgenen Mäuse zur Untersuchung von DCIS und zur Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika.

Auch wenn transgene Mäuse mit den gleichen technischen Merkmalen, wie die beanspruchten Mäuse, im Stand der Technik bekannt sind (siehe oben), wurden diese Mäuse nie als Tiermodell für DCIS erkannt. In den bereits zitierten Dokumenten D1-D4 liegt bei der Analyse der transgenen Tiere der Fokus viel mehr auf den ausgewachsenen Mammarkarzinomen als auf den früheren Stadien der Erkrankung. Demzufolge, ist die Verwendung dieser Mäuse zur Untersuchung für DCIS neu und erfinderisch (Art. 33(1)-(3) PCT).

## **6. Zu Punkt VII**

### **Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

- 6.1. Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

**7. Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

- 7.1. Der in den Ansprüchen 4 und 12 benutzte Ausdruck "starkes T-Zell Epitop" ist vage und unklar und läßt den Leser über die Bedeutung des betreffenden technischen Merkmals im Ungewissen. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands dieser Ansprüche nicht klar ist (Artikel 6 PCT).
- 7.2. Der in den Ansprüchen 6 und 14 benutzte Begriff "n118 Epitop" hat keine allgemein anerkannte Bedeutung. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands dieser Ansprüche nicht klar ist. Die Sequenz dieses Epitops sollte in diesen Ansprüchen angegeben werden (Artikel 6 PCT).  
Desweiteren, wurde die pWAP-T-NP DNA im Gegensatz zu den Behauptungen des Anmelders (siehe S. 7, Zeilen 23-27) nicht hinterlegt (Regel 13 bis PCT). Der Prüfer konnte die angegebene DSM Nummer bei der DSMZ nicht finden.  
Die unterschiedlichen Mauslinien wurden auch nicht hinterlegt.
- 7.3. Die Ansprüche 8 und 16 enthalten Bezugnahmen auf Figuren. Gemäß Regel 6.2 a) PCT dürfen Ansprüche nur dann Bezugnahmen enthalten, wenn dies unbedingt erforderlich ist, was hier nicht der Fall ist. Außerdem betreffen diese Ansprüche Mäuse und ihre Herstellung, obwohl die Abbildungen, auf die sich diese Ansprüche beziehen, nur Zellen zeigen.

PCT/DE00/00232

Anwaltsakte: M 4357 - hu / st

### Patentansprüche

1. Säugetier mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ (DCIS), wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält, das eine für ein starkes T-Zell-Epitop kodierende Sequenz umfaßt.
- 5 2. Säugetier nach Anspruch 1, wobei das Onkogen unter der Kontrolle des WAP-Promotors steht.
3. Säugetier nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen ist.
- 10 4. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.
5. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Säugetier aus jenen der Figuren 7, 8 und 9 ausgewählt ist.
- 15 6. Säugetier mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ (DCIS) wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält und aus jenen der Figuren 4, 5 und 6 ausgewählt ist.
- 20 7. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei sich das DCIS zu invasivem duktalem Mammakarzinom entwickelt.
- 25 8. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die laktotropen Hormone Östrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.

9. Verfahren zur Bereitstellung eines Säugetiers nach einem der Ansprüche 1 bis 5, umfassend die folgenden Schritte:

- 5           (a) Einführung einer für ein Onkogen kodierenden DNA in befruchtete Oocyten eines Säugetiers, wobei die DNA unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist,
- (b) Implantierung der Oocyten von (a) in pseudoschwangere Säugetiere, und
- 10           (c) Selektion der in (b) erhaltenen Nachkommen auf die Bildung eines DCIS.

10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei der Promotor der WAP-Promotor ist.

15           11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen ist.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 11, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.

20

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 12, wobei die laktotropen Hormone Östrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 13, wobei sich das DCIS zu  
25           invasivem ductalen Mammakarzinom entwickelt.

30

15. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1 bis 8, zur Untersuchung von DCIS, seiner Progression zu invasivem duktalem Karzinom und letzterem.

16. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur Forschung und Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika für DCIS bzw. ein invasives duktales Karzinom.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>M 4357 Wd</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/ 00232</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>26/01/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>28/01/1999</b>
Anmelder <b>MICE &amp; MORE GMBH &amp; CO. KG et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**SÄUGETIER MIT INDUZIERBAREM DUKTALEN KARZINOM IN SITU**

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☒ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/00 A01K67/027 C07K14/82 A61K49/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A01K C12N C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	TZENG, Y.J. ET AL.: "SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors." ONCOGENE, Bd. 16, Nr. 16, 23. April 1998 (1998-04-23), Seiten 2103-14, XP000929570 das ganze Dokument	1-5, 7-13, 15-18
X	ROBINSON, G.W. ET AL.: "Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators." DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Bd. 206, Nr. 2, 1996, Seiten 159-168, XP000929573 das ganze Dokument	1-5, 7-13, 15-18



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

1. August 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

21/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Smalt, R

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 97 39117 A (UNIV LIVERPOOL ; RUDLAND PHILIP SPENCER (GB); BARRACLOUGH BARRY ROG) 23. Oktober 1997 (1997-10-23) das ganze Dokument ----	1,2,4,5, 8-10,12, 13,16
X	JÄGER, R. ET AL.: "Overexpression of Bcl-2 inhibits alveolar cell apoptosis during involution and accelerates c-myc-induced tumorigenesis of the mammary gland in transgenic mice." ONCOGENE, Bd. 15, Nr. 15, 9. Oktober 1997 (1997-10-09), Seiten 1787-95, XP000929569 das ganze Dokument ----	1,2,4, 8-10,12, 16-18
A	VAN DER MOST, R. G. ET AL.: "An analysis of cytotoxic T cell response to dominant and subdominant epitopes during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection." JOURNAL OF IMMUNOLOGY, Bd. 157, 1996, Seiten 5543-54, XP002143920 das ganze Dokument ----	4,6,12, 14
A	WO 97 09440 A (SALLER ROBERT MICHAEL ; SALMONS BRIAN (DE); GSF FORSCHUNGSZENTRUM U) 13. März 1997 (1997-03-13) das ganze Dokument ----	
T	SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: "A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ (DCIS) of the mammary gland." ONCOGENE, Bd. 19, Nr. 8, 21. Februar 2000 (2000-02-21), Seiten 1028-37, XP000929607 das ganze Dokument -----	1-18

PC

## ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

V	meldeamt auszufüllen
Internationales Aktenzeichen	
Internationales Anmeldedatum	
Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"	
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht) (max. 12 Zeichen) M 4357 Wd	

<b>Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG</b>	
Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung	
<b>Feld Nr. II ANMELDER</b>	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)  mice & more GmbH & Co. KG Martinistrasse 52 D-20251 Hamburg	<input type="checkbox"/> Diese Person ist gleichzeitig Erfinder  Telefonnr.:  Telefaxnr.:  Fernschreibnr.:
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input checked="" type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten	
<b>Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER</b>	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)  Schulze-Garg, Christine Mortagneweg 7 D-21521 Aumühle	Diese Person ist: <input type="checkbox"/> nur Anmelder <input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder <input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.	
<b>Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT</b>	
Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als: <input checked="" type="checkbox"/> Anwalt <input type="checkbox"/> gemeinsamer Vertreter	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  Dr. Bernard Huber HUBER & SCHÜSSLER Patentanwälte · Patent Attorneys Truderinger Straße 246 · 81825 München Tel. 089/42 72 47 48 · Fax 089/42 72 47 49	Telefonnr.:  Telefaxnr.:  Fernschreibnr.:
<input type="checkbox"/> <b>Zustellanschrift:</b> Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.	

## Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

*Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.*

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

DEPPERT, Wolfgang  
Im Hain 14  
D-22359 Hamburg

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. V BESTIMMUNG STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☐ AP ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ OA OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien                          | <input type="checkbox"/> LS Lesotho   |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien                          | <input type="checkbox"/> LT Litauen   |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich                        | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg                                       |
| <input type="checkbox"/> AU Australien                        | <input type="checkbox"/> LV Lettland  |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan                      | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau                                 |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina               | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados               | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien                         | <input type="checkbox"/> MN Mongolei  |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien                         | <input type="checkbox"/> MW Malawi  |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus                           | <input type="checkbox"/> MX Mexiko  |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada                            | <input type="checkbox"/> NO Norwegen  |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein  | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland                                      |
| <input type="checkbox"/> CN China                             | <input type="checkbox"/> PL Polen   |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba                              | <input type="checkbox"/> PT Portugal  |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik             | <input type="checkbox"/> RO Rumänien  |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland                       | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation                            |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark                          | <input type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input type="checkbox"/> EE Estland                           | <input type="checkbox"/> SE Schweden  |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien                           | <input type="checkbox"/> SG Singapur  |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland                          | <input type="checkbox"/> SI Slowenien                                       |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich            | <input type="checkbox"/> SK Slowakei  |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien                          | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone                                    |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana                             | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan                                   |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia                            | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan                                    |
| <input type="checkbox"/> GW Guinea-Bissau                     | <input type="checkbox"/> TR Türkei  |
| <input type="checkbox"/> HR Kroatien                          | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago                             |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn                            | <input type="checkbox"/> UA Ukraine   |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien                        | <input type="checkbox"/> UG Uganda  |
| <input type="checkbox"/> IL Israel                            | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika       |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                  | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan                                      |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia                             | <input type="checkbox"/> VN Vietnam   |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan                       | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien                                     |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe  |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea                    |   |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan                        |   |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia                       |   |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka                         |   |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia                           |   |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANMELDUNG		<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.		
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		ationale Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung: regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 28. Jan. 1999	199 03 371.4	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				

☒ Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) 1 bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)

\* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

#### Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

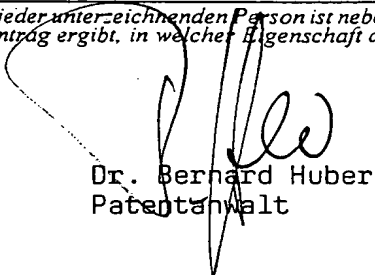
Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden)	Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):
ISA / EPA	Datum (Tag/Monat/Jahr)      Aktenzeichen      Staat (oder regionales Amt)

#### Feld Nr. VIII KONTROLLISTE: EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern:	Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:
Antrag : 4	1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung
Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 10	2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht
Ansprüche : 2	3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):
Zusammenfassung : 1	4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift
Zeichnungen : 9	5. <input checked="" type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet:
Sequenzprotokollteil der Beschreibung :	6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:
Blattzahl insgesamt : 26	7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material
	8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form
	9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflühren): Scheck
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):	Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird:

#### Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

  
Dr. Bernard Huber  
Patentanwalt

München, 26.1.2000

Vom Anmeldeamt auszufüllen	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen:  <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

#### Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:

## PCT

## BLATT FÜR DIE GEBÜHRENBERECHNUNG

Anhang zum Antrag

Von Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Eingangsstempel des Anmeldeamts

Aktenzeichen des Anmelders  
oder Anwalts

M 4357 Wd

Anmelder

mice &amp; more

## BERECHNUNG DER VORGESCHRIEBENEN GEBÜHREN

1. ÜBERMITTLUNGSGEBÜHR 175,-- T

2. RECHERCHENGEBÜHR 1848,26 S

Die internationale Recherche ist durchzuführen von EPA  
 (Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig,  
 ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll.)

## 3. INTERNATIONALE GEBÜHR

## Grundgebühr

Die internationale Anmeldung enthält 26 Blätter.

umfaßt die ersten 30 Blätter 799,93 b1

x = b2

Anzahl der Blätter Zusatzblattgebühr  
über 30Addieren Sie die in Feld b1 und b2 eingetragenen  
Beträge, und tragen Sie die Summe in Feld B ein 799,93 B

## Bestimmungsgebühren

Die internationale Anmeldung enthält 3 Bestimmungen.

3 x 172,11 = 516,33 D

Anzahl der zu zahlenden Bestimmungsgebühr

Bestimmungsgebühren (maximal 11)

Addieren Sie die in Feld B und D eingetragenen  
Beträge, und tragen Sie die Summe in Feld I ein 1316,26 I

(Anmelder aus einigen Staaten haben Anspruch auf eine Ermäßigung der internationalen Gebühr um 75%.  
 Hat der Anmelder (oder haben alle Anmelder) einen solchen Anspruch, so beträgt der in Feld I einzutragende  
 Gesamtbetrag 25% der Summe der in Feld B und D eingetragenen Beträge.)

4. GEBÜHR FÜR PRIORITÄTSBELEG (ggf.) 35,-- P

## 5. GESAMTBETRAG DER ZU ZAHLENDEN GEBÜHREN

Addieren Sie die in Feldern T, S, I und P eingetragenen Beträge,  
und tragen Sie die Summe in das nebenstehende Feld ein 3374,52

INSGESAMT

☐ Die Bestimmungsgebühren werden jetzt noch nicht gezahlt.

## ZAHLUNGSWEISE

☐ Abbuchungsauftrag (siehe unten) ☐ Bankwechsel ☐ Kupons  
☒ Scheck ☐ Barzahlung ☐ Sonstige (einzeln angeben):  
☐ Postanweisung ☐ Gebührenmarken

## ABBUCHUNGSAUFTRAG (diese Zahlungsweise gibt es nicht bei allen Anmeldeämtern)

Das Anmeldeamt/ ☐ wird beauftragt, den vorstehend angegebenen Gesamtbetrag der Gebühren von meinem laufenden  
Konto abzubuchen.  
☐ wird beauftragt, Fehlbeträge oder Überzahlungen des vorstehend angegebenen Gesamtbetrags der  
Gebühren meinem laufenden Konto zu belasten bzw. gutzuschreiben.  
☐ wird beauftragt, die Gebühr für die Ausstellung des Prioritätsbelegs und seine Übermittlung an das  
Internationale Büro der WIPO von meinem laufenden Konto abzubuchen.

Kontonummer

Datum (Tag/Monat/Jahr)

Unterschrift

Der Antrag ist bei der zuständigen mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn mehrere Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/ \_\_\_\_\_

# PCT

## KAPITEL II

### ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:  
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird.

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

Bezeichnung der IPEA	Eingangsdatum des ANTRAGS
----------------------	---------------------------

<b>Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG</b>		Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>M 4357 / st</b>
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE00/00232</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>26. Januar 2000</b>	(Frühester) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) <b>28. Januar 2000</b>
Bezeichnung der Erfindung <b>Säugetier sowie Verfahren zur seiner Herstellung und seine Verwendung</b>		
<b>Feld Nr. II ANMELDER</b>		
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  <b>mice &amp; more GmbH &amp; Co. KG Martinistraße 52 D-20251 Hamburg</b>		Telefonnr.:  Telefaxnr.:  Fernschreibnr.:
Staatsangehörigkeit (Staat): <b>DE</b>	Sitz oder Wohnsitz (Staat): <b>DE</b>	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  <b>Schulze-Garg, Christine Mortagneweg 7 D-21521 Aumühle</b>		
Staatsangehörigkeit (Staat): <b>DE</b>	Sitz oder Wohnsitz (Staat): <b>DE</b>	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  <b>Deppert, Wolfgang Im Hain 14 D-22359 Hamburg</b>		
Staatsangehörigkeit (Staat): <b>DE</b>	Sitz oder Wohnsitz (Staat): <b>DE</b>	
<input type="checkbox"/> Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.		

## Feld Nr. III ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

- Die folgende Person ist ☒ Anwalt ☐ gemeinsamer Vertreter
- und ☒ ist vom (von den) Anmelder(n) bereits früher bestellt worden und vertritt ihn (sie) auch für die internationale vorläufige Prüfung.
- ☐ wird hiermit bestellt: eine etwaige frühere Bestellung eines Anwalts/gemeinsamen Vertreters wird hiermit widerrufen.
- ☐ wird hiermit zusätzlich zu dem bereits früher bestellten Anwalt/gemeinsamen Vertreter, nur für das Verfahren vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde bestellt.

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

Huber, Bernard, Dr.,  
Patentanwälte Huber & Schübler  
Truderinger Str. 246  
81825 München

Telefonnr.:

089/42 72 47 48

Telefaxnr.:

089/42 72 47 49

Fernschreibnr.:

- ☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben wird.

## Feld Nr. IV ERKLÄRUNG BETREFFEND ÄNDERUNGEN

Der Anmelder wünscht, daß die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde\*

- i) ☒ die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung aufnimmt.
- ii) ☐ die Änderungen nach Artikel 34
- ☐ der Beschreibung (Änderungen liegen bei)
- ☐ der Ansprüche (Änderungen liegen bei)
- ☐ der Zeichnungen (Änderungen liegen bei)
- berücksichtigt.
- iii) ☐ die beim Internationalen Büro eingereichten Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 berücksichtigt (Kopie liegt bei).
- iv) ☐ die Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 nicht berücksichtigt, sondern als überholt ansieht.
- v) ☐ den Beginn der internationalen vorläufigen Prüfung bis zum Ablauf von 20 Monaten ab dem Prioritätsdatum aufschiebt, sofern die Behörde nicht eine Kopie nach Artikel 19 vorgenommener Änderungen oder eine Erklärung des Anmelders erhält, daß er keine solchen Änderungen vornehmen will (Regel 69.1 d)). *(Dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Frist nach Artikel 19 noch nicht abgelaufen ist.)*

\* Wenn kein Kästchen angekreuzt wird, wird mit der internationalen vorläufigen Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung begonnen: wenn eine Kopie der Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 und/oder Änderungen der internationalen Anmeldung nach Artikel 34 bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde eingeht, bevor diese mit der Erstellung eines schriftlichen Bescheids oder des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts begonnen hat, wird jedoch die geänderte Fassung verwendet.

## Feld Nr. V BENENNUNG VON STAATEN ALS AUSGEWÄHLTE STAATEN

- ☒ Der Anmelder benennt als ausgewählte Staaten alle auswählbaren Staaten (das heißt, alle Staaten, die bestimmt wurden und durch Kapitel II des PCT gebunden sind) ausgenommen .....

*(Möchte der Anmelder bestimmte Staaten nicht auswählen, sind die Namen oder Zweibuchstaben-Codes dieser Staaten auf den obenstehenden Zeilen anzugeben.)*

## Feld Nr. VI KONTROLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung bei:

- |   |   |         |
|---|---|---------|
| 1. Änderungen nach Artikel 34                         |   |         |
| Beschreibung  | : | Blätter |
| Ansprüche   | : | Blätter |
| Zeichnungen   | : | Blätter |
| 2. Begleitschreiben zu den Änderungen nach Artikel 34 | : | Blätter |
| 3. Kopie der Änderungen nach Artikel 19               | : | Blätter |
| 4. Kopie einer Erklärung nach Artikel 19              | : | Blätter |
| 5. Sonstige (einzeln auflühren):                      | : | Blätter |

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten      nicht erhalten

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- |  |   |
|--|---|
| 1. <input type="checkbox"/> unterzeichnete gesonderte Vollmacht        | 4. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht            | 5. <input checked="" type="checkbox"/> sonstige (einzeln auflühren):    |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | Verrechnungsscheck  |

## Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

*A. Schübler*  
Dr. Andrea Schübler  
Patentanwältin

22. August 2000

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

- |  |   |
|--|---|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS:   |   |
| 2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b):  |   |
| 3. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum: Punkt 4 und Punkt 5. unten, finden keine Anwendung.                   | <input type="checkbox"/> Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet |
| 4. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 80.5.                                      |   |
| 5. <input type="checkbox"/> Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 82 ENTSCHULDIGT. |   |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

**by fax and post**

**PCT**

An:

HUBER, Bernard et al  
Huber & Schüssler  
Truderinger Strasse 246  
81825 München  
ALLEMAGNE

Huber & Schüssler  
Patentanwälte

06. NOV. 2000

Frist: ..... *ber. best.*

AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG  
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG  
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN

(Artikel 34 (3) a) und Regel 68.2 PCT)

FAX: 089 / 43 73 47 49

Absendedatum  
(Tag/Monat/Jahr)

03.11.2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts  
M 4357 Wd

**ANTWORT FÄLLIG** innerhalb von 1 Monat(en)  
ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE00/00232

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)  
26/01/2000

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)  
28/01/1999

Internationale Patentklassifikation (IPC) oder nationale Klassifikation und IPC  
C12N15/00

Anmelder

MICE & MORE GMBH & CO. KG et al.

## 1. Die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde

- (i) ist der Auffassung, dass die **internationale Anmeldung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung** aus den im Anhang angegebenen Gründen **nicht genügt** (Regel 13.1, 13.2 und 13.3).
- (ii) ist der Auffassung, dass mit der internationalen Anmeldung **4 Erfindungen** beansprucht werden (siehe Anhang).
- (iii) weist darauf hin, dass sich die internationale vorläufige Prüfung nicht auf Ansprüche erstrecken muss, die sich auf Erfindungen beziehen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt worden ist (Regel 66.1 e)).

## 2. Der Anmelder wird daher **aufgefordert**, die **Ansprüche** innerhalb der oben genannten Frist **einzuschränken**, wie unter Punkt 3 unten vorgeschlagen, **oder** den nachstehend angegebenen Betrag **zu bezahlen**:

$$\begin{array}{rcccl} \text{eur } 1533.00 & & 003 & & \text{eur } 4599.00 \\ \hline \text{Gebühr pro zusätzliche Erfindung} & \times & \text{Zahl der zusätzlichen Erfindungen} & = & \text{Gesamtbetrag der zusätzlichen Gebühren} \end{array}$$

Der Anmelder wird draufhingewiesen, dass gemäss Regel 68.3 c) die **Zahlung zusätzlicher Gebühren unter Widerspruch erfolgen kann**; dem Widerspruch ist eine Begründung des Inhalts beizufügen, dass die internationale Anmeldung das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung erfülle oder dass der Betrag der geforderten zusätzlichen Gebühr überhöht sei.

- 3. **Falls sich der Anmelder für eine Einschränkung der Ansprüche entscheidet**, schlägt die Behörde die im Anhang angegebenen Einschränkungsmöglichkeiten vor, die nach ihrer Auffassung dem Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung genügen.
- 4. **Geht keine Erwiderung des Anmelders ein**, so erstellt die Behörde den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht über die im Anhang angegebenen Teile der internationalen Anmeldung, die sich nach ihrer Auffassung auf die Haupterfindung zu beziehen scheinen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt  
D-80298 München  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Trommsdorff, M

Tel. +49 89 2399-7361



**AUFFORDERUNG ZUR EINSCHRÄNKUNG  
DER ANSPRÜCHE ODER ZUR ZAHLUNG  
ZUSÄTZLICHER GEBÜHREN**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00232

**1. Zitierte Dokumente**

In diesem Bescheid werden folgende, im Recherchenbericht zitierte Dokumente (D) genannt; die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten:

- D1: TZENG, Y.J. ET AL.: 'SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors.' ONCOGENE, Bd. 16, Nr. 16, 23. April 1998 (1998-04-23), S.2103-14,
- D2: ROBINSON, G.W. ET AL.: 'Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators.' DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Bd. 206, Nr. 2, 1996, S.159-168
- D7: SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: 'A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ of the mammary gland.' ONCOGENE, Bd.19, Nr.8, 21Feb 2000 (2000-02-21), S.1028-37

**2. Inhalt der Anmeldung**

Die vorliegende Anmeldung betrifft transgene Mäuse, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Gen enthalten und ein induzierbares ductales Karzinom in situ (DCIS) vorweisen. Genauer beschrieben sind transgene Mäuse, die ein SV-40 T- Antigen, das unter der Kontrolle eines "whey acidic protein" (WAP) Promoters steht, exprimieren. Ferner sind Methoden zur Herstellung der besagten Mäuse beschrieben.

**3. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

Die verschiedenen Erfindungen sind:

1) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)  
WAP-T1 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

2) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)  
WAP-T2 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

für eine verlässliche Diagnose bzw. angemessene Therapie aufgezeigt werden können.

5 Erfindungsgemäß wird dies durch die Gegenstände in den Patentansprüchen erreicht.

10 Die vorliegende Erfindung beruht auf den Erkenntnissen des Anmelders, daß ein DCIS der weiblichen Brustdrüse in Säugetieren, z.B. Mäusen, induziert werden kann, die ein Onkogen, z.B. die frühe Region von SV40, d.h. das Gen für das SV40 T-Ag enthalten, das durch laktotrope Hormone, wie Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison, aktivierbar ist. Ferner hat er erkannt, daß sich das DCIS zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom entwickeln kann.

15 Erfindungsgemäß werden die Erkenntnisse des Anmelders genutzt, ein Säugetier mit einem induzierbaren DCIS der weiblichen Brustdrüse bereitzustellen, das ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält. Vorzugsweise kann sich das DCIS zu einem invasiven duktalen Mammakarzinom entwickeln.

20

25 Der Ausdruck "DCIS der weiblichen Brustdrüse" weist auf eine nicht-invasive, d.h. die Basalmembran noch nicht durchbrechende, neoplastische Vermehrung von Epithelzellen in das Lumen der ductulo-lobulären Einheit des Milchdrüsensystems hin. Insbesondere zeichnet sich das DCIS durch histologische Merkmale, wie hyperchromatische, pleomorphe, grobschollig strukturierte oder auffällig große Kerne, aus. Ferner kann es eine verschobene Kern-Plasma-Relation oder zahlreiche Mitosefiguren ausweisen. Desweiteren kann sich das DCIS dadurch kennzeichnen, daß sich die Proliferation der Epithelzellen in das Lumen des Ducts als mehrlagige oder siebförmige Auskleidung bzw. als intraluminale Verzweigung oder mikropapillär zeigen. Darüberhinaus kann sich das DCIS

30

35 durch Nekrosen, Apoptosefiguren, Psammomkörper, d.h. zwiebelschalenartige Kristallisationsprodukte mit Kalkeinlagerungen, im Lumen des Ducts und Verlust der der Basalmembran unterliegenden Myoepithelschicht ausweisen.

Der Ausdruck "laktotrope Hormone" weist auf Hormone hin, die von Säugetieren, z.B. in der Schwangerschaft und/oder Laktationsperiode, ausgeschüttet werden und laktotrop wirken. Beispiele solcher Hormone umfassen Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison.

Der Ausdruck "Onkogen" umfaßt jegliche Gene bzw. Teile davon, die eine Zell-transformierende Eigenschaft aufweisen können. Beispiele solcher Gene umfassen erb A, erb B, fos, myc, E6, E7 und die frühe Region von SV40, d.h. das Gen für das SV40 T-Ag, und mutiertes p53. Ferner kann das Onkogen Sequenzen aufweisen, die für ein starkes, d.h. immundominantes, T-Zell-Epitop, z.B. das MHCI restringierte Epitop n118 des Nucleoproteins des LCM-Virus, kodieren.

Der Ausdruck "durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen" weist darauf hin, daß vorstehendes Onkogen durch laktotrope Hormone aktivierbar ist. Dies kann in verschiedenster Weise erreicht werden. Günstig kann es sein das Onkogen unter die Kontrolle eines Promotors zu stellen, der für ein oder mehrere laktotrope Hormone spezifisch ist. Ein solcher Promotor ist z.B. der "whey acidic protein" (WAP)-Promotor. Seine Spezifität umfaßt die laktotropen Hormone, Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison. Es wird auf nachstehende Ausführungen hinsichtlich der Herstellung eines erfindungsgemäßen Säugetiers verwiesen.

Der Ausdruck "Säugetier" umfaßt jegliche Säugetiere mit Ausnahme des Menschen, die laktotrope Hormone, z.B. in der Schwangerschaft und/oder Laktationsperiode, ausschütten und in denen ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen vorliegen kann. Beispiele solcher Säugetiere umfassen Mäuse, Ratten, Kaninchen, Pferde, Rinder, Schafe, Ziegen, Affen, Schweine, Hunde und Katzen, wobei Mäuse insbesondere genannt werden.

Bevorzugte Säugetiere der vorliegenden Erfindung sind Mäuse, die das Gen für das SV40 T-Ag unter der Kontrolle des WAP-

Promotors enthalten. Auch kann das SV40 T-Ag-Gen Sequenzen enthalten, die für ein starkes, d.h. immundominantes, T-Zell-Epitop, z.B. das Epitop n118 des Nucleoproteins des LCM-Virus kodieren, enthalten. Solche Mäuse werden mit WAP-T bzw. WAP-T-NP bezeichnet (vgl. Fig. 1). Besonders bevorzugt sind die Mäuse WAP-T-1, WAP-T-2, WAP-T-10, WAP-T-NP6, WAP-T-NP8 und WAP-T-NP10. Diese Mäuse kennzeichnen sich wie folgt:

#### **WAP-T-1**

Diese Mäuse entwickeln durchschnittlich 7 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen meist multifokale invasive ductale Mammakarzinome. Es ist keine präferentielle Tumorentstehung in einer der Mammae zu beobachten. Invasive Karzinome sind in der Regel tubulär bis papillär differenziert, mit z.T. soliden anaplastischen Anteilen, die auch eine desmoplastische Reaktion zeigen können. Gelegentlich treten Lungenmetastasen auf. Die Mehrzahl der Tiere entwickelt jedoch keine Metastasen und die Primärtumoren wachsen nur langsam. Makroskopisch nicht befallene Mammae zeigen multifokale DCIS. Die meisten DCIS können aufgrund des isomorphen Erscheinungsbildes der Kerne als "low grade" in Analogie zur Klassifizierung humaner DCIS nach NUYS Index eingestuft werden. Komedonekrosen und Psammomkörper werden gelegentlich beobachtet. Die Ausbildung von intraluminalen Verzweigungen ("roman arches" Bildung) kommt dagegen vor (vgl. Fig. 4).

#### **WAP-T-2**

Diese Tiere weisen ein hellbraunes Fell auf. Ferner entwickeln sie etwa 6 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen invasive ductale Mammakarzinome. Differenzierte Mammakarzinome sind vorwiegend tubulär bis lobulär. Anaplastische Mammakarzinome präsentieren sich mit einigen Tumorzellen. Mikrometastasen in Lymphknoten werden beobachtet. In seltenen Fällen kann es zur Entstehung von Fibrosarkomen ausgehend von der Mamma oder dem Uterus kommen. Die multifokal auftretenden DCIS zeigen mikropapilläre und cribriforme

Wachstumsmuster. Auch einlagig ausgekleidete Formen mit Komedonekrose oder Psammomkörpern werden beobachtet. Da sich die Zellkerne meist isomorph präsentieren, können diese DCIS als nicht "high grade" (vgl. vorstehend) bewertet werden (vgl. Fig. 5).

#### **WAP-T-10**

Diese Mäuse entwickeln etwa 8 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen palpierbare ductale Mammakarzinome, die metastasieren können. Es werden sowohl solide und wenig differenzierte Karzinome, die zahlreiche Mitosen aufweisen, als auch tubuläre bis papilläre Formen gefunden. Die untersuchten Metastasen sind papillär differenziert. Die multifokal auftretenden DCIS weisen Komedonekrosen auf und entsprechen aufgrund der Kernmorphologie (Pleomorphie, Hyperchromasie, u.a.) einem "high grade" DCIS (vgl. vorstehend; und Fig. 6).

#### **WAP-T-NP6**

Diese Mäuse entwickeln etwa 11 Monate nach mehrfacher Induktion mit laktotropen Hormon palpierbare invasive Karzinome. In seltenen Fällen treten auch hepatozelluläre Adenome sowie Speicheldrüsenadenome auf. Die Mammakarzinome sind vorwiegend tubulär oder papillär differenziert, gelegentlich nur mäßig differenziert mit ausgedehnten Nekrosen und teilweise auch solide. In mammären Lymphknoten treten Mikrometastasen auf. Die Zellkerne der multifokal auftretenden DCIS sind meist unauffällig "low grade" (vgl. vorstehend) und es sind Komedonekrosen vorhanden (vgl. Fig. 7).

#### **WAP-T-NP8**

Diese Mäuse entwickeln etwa 5 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen invasive ductale Karzinome. Es werden sowohl tubulo-papillär differenzierte als auch schlecht differenzierte, solide Tumore gefunden. Tiere mit schlecht differenzierten Tumoren zeigen Lungenmetastasen. Die Lumen umschriebener kleiner invasiver Karzinome und von DCIS sind in

einigen Fällen von Granulozyten infiltriert. Gelegentlich treten auch nicht epitheliale Tumoren mammären Ursprungs, z.B. Fibro- und Osteosarkome, sowie infiltrierende histiozytäre Sarkome auf. Die zwischen 15 und 20 Wochen nach Induktion mit laktotropen Hormonen apparenten multifokalen DCIS entsprechen aufgrund der Kernmorphologie einer "high grade" Form (vgl. vorstehend; und Fig. 8).

#### WAP-T-NP10

Diese Mäuse entwickeln etwa 11 Monate nach mehreren Induktionen mit laktotropen Hormonen ein invasives ductales Mammarkarzinom. Diese Karzinome sind häufig tubulär bis papillär differenziert mit soliden und nekrotischen, aber nur mäßig differenzierten Anteilen. Die DCIS präsentieren sich mit isomorphen Kernen (nicht "high grade"; vgl. vorstehend). Es treten DCIS mit mikropapillärem Wachstum sowie Formen mit totalem Verlust der Myoepithelschicht und Psammomkörperbildung auf (vgl. Fig. 9).

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Zellen, die aus dem erfindungsgemäßen Säugetier erhalten werden. Diese Zellen können in jeglicher Form vorliegen, z.B. in einer Primär- oder Langzeit-Kultur.

Ein erfindungsgemäßes Säugetier kann durch übliche Verfahren bereitgestellt werden. Günstig kann ein Verfahren sein, das folgende Schritte umfaßt:

- (a) Einführung einer für ein Onkogen kodierenden DNA in befruchtete Oocyten eines Säugetiers, wobei die DNA unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist,
- (b) Implantierung der Oocyten von (a) in pseudoschwangere Säugetiere, und
- (c) Selektion der in (b) erhaltenen Nachkommen auf die Bildung eines DCIS.

Hinsichtlich der Ausdrücke "Onkogen", "laktotrope Hormone",

"Säugetiere" und "DCIS" wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen.

5        Ferner weist der Ausdruck "pseudoschwangere Säugetiere" auf solche Säugetiere hin, die mit nicht zeugungsfähigen, d.h. serilen oder vasktomierten, männlichen Säugetieren, verpaart worden sind und einen Vaginalpfropfen aufweisen. Es wird auf das nachstehende Beispiel verwiesen.

10       Der Ausdruck "befruchtete Oocyten" weist auf Oocyten von schwangeren Säugetieren hin, die entleert worden sind. Es wird auf das nachstehende Beispiel verwiesen.

15       Der Ausdruck "DNA, die für ein Onkogen kodiert und unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist" betrifft eine in jeglicher Form vorliegende DNA, die diese Eigenschaften aufweist. Die DNA kann als solche oder in Kombination mit einer anderen DNA, z.B. einem Vektor, vorliegen. Ferner kann sie zirkulär oder linear vorliegen.  
20       Desweiteren kann sie Sequenzen enthalten, die eine Rekombination mit der DNA des Säugetiers fördern. Darüberhinaus kann sie Sequenzen enthalten, die für ein T-Zell-Epitop, z.B. das MHC I restringierte Epitop n118 des Nukleoproteins des LCM-Virus, kodieren. Eine solche DNA wurde  
25       bei der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) als pWAP-T-NP unter DSM 12608 am 22. Dezember 1998 hinterlegt.

30       Desweiteren kennt der Fachmann Bedingungen und Materialien, um die Schritte (a)-(c) durchzuführen. Hinsichtlich der Selektion in (c) wird er z.B. auf Verfahren zurückgreifen, mit denen die vorstehend erwähnten histologischen Merkmale nachgewiesen werden können.

35       Mit der vorliegenden Erfindung wird ein Säugetier bereitgestellt, in dem ein DCIS induziert werden kann. Ferner kann sich aus dem DCIS ein invasives ductales Mammarkarzinom entwickeln. Damit können die molekularen Ursachen eines DCIS

bzw. seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom untersucht werden. Insbesondere ist es von Vorteil, daß Säugetiere bereitgestellt werden können, die unterschiedlich lange Latenzzeiten bis zur Entwicklung eines DCIS bzw. eines invasiven ductalen Karzinoms aufweisen, wodurch mittels einer vergleichenden Untersuchung eine Korrelation zwischen DCIS-Typ (inklusive der identifizierten molekularen Marker) und Risiko des DCIS hergestellt werden kann. Desweiteren ist es von Vorteil, daß die Rolle des Immunsystems bei der Ausbildung eines DCIS bzw. seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom untersucht werden kann, was durch das Vorliegen eines starken T-Zell-Epitops im Onkogen-Produkt begünstigt wird. Darüber hinaus liefert die vorliegende Erfindung eine Basis diagnostische Marker zu entwickeln, mit denen einzelne Entwicklungsstufen des DCIS bzw. des invasiven ductalen Karzinoms nachgewiesen und somit Vorhersagen über die Entwicklung des DCIS bzw. seiner Progression getroffen werden können. Desweiteren gibt die vorliegende Erfindung die Möglichkeit, Therapeutika gegen vorstehende Erkrankungen zu entwickeln.

#### **Kurze Beschreibung der Zeichnungen:**

**Fig. 1** zeigt eine für die Herstellung einer erfindungsgemäßen Maus verwendete DNA, die für das SV40 T-Ag bzw. ein das n118 Epitop des LCM-Virus enthaltendes SV40 T-Ag (SV40 T-Ag-NP) kodiert. Die DNA wird in linearer Form verwendet und in befruchtete Oocyten injiziert.

**Fig. 2** zeigt die Expression von SV40 T-Ag bzw. SV40 T-Ag-NP in der Mammaria erfindungsgemäßer Mäuse.

(a) Nukleäre Expression von SV40 T-Ag in den Epithelzellen morphologisch unauffälliger Ductuli 12 Monate nach Induktion der erfindungsgemäßen Maus WAP-T-1.

(b) Nukleäre Expression von T-Ag in den Tumorzellen von DCIS 12 Monate nach Induktion

der erfindungsgemäßen Maus WAP-T-NP6.

**Fig. 3** zeigt Beispiele häufiger Tumorphänotypen von erfindungsgemäßen Mäusen. In Paraffin eingebetete Schnitte, H&E-Färbung:

(a) Tubulär bis papillär differenziertes invasives ductales Mammakarzinom mit desmoplastischer Reaktion der Maus WAP-T-10.

(b) Anaplastisches invasives ductales Mammakarzinom mit ausgedehnten Nekrosen der Maus WAP-T-NP8.

**Fig. 4** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-1 ein induziertes DCIS mit relativ unauffälligen Kernen, z.T. mit intraluminaler Verzweigung, Psammomkörpern und Komedonekrose.

**Fig. 5** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-2 ein induziertes DCIS mit mikropapillärem Wachstumsmuster, desmoplastischer Reaktion und entzündlichen Infiltraten, daneben auch ein- bis mehrlagig ausgekleidetes DCIS mit Psammomkörpern und Komedonekrose.

**Fig. 6** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-10 mehrere induzierte DCIS mit hyperchromatischen, pleomorphen Kernen. In der Umgebung sind entzündliche Infiltrate erkennbar.

**Fig. 7** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-NP6 ein induziertes DCIS mit meist unauffälligen Kernen und gelegentlichen Komedonekrosen. Es sind einlagige und lokal mehrlagige Auskleidungen der ductalen Lumen sichtbar.

**Fig. 8** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-NP8 mehrere induzierte DCIS mit pleomorphen, z.T. auffällig großen Kernen und Psammomkörpern.

**Fig. 9** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-NP10 ein induziertes DCIS mit relativ isomorphen Kernen und

mikropapillärem und z.T. intraluminale Verzweigungen bildendem Wachstumsmuster.

Die Erfindung wird durch das Beispiel erläutert.

5

**Beispiel: Herstellung eines erfindungsgemäßen Säugetiers**

Etwa 20 weibliche CB6F1 Mäuse im Alter von 4-5 Wochen werden durch intra peritoneale Injektion von 5 U PMS (pregnant mare's  
10 serum) am Tag 1 und eine weitere intra peritoneale Injektion von 5 U hCG (humanes Choriongonadotropin) am Tag 3 superovuliert und am Abend desselben Tages mit männlichen CB6F1 Tieren verpaart. Am Morgen des 4. Tages werden die Tiere auf das Vorhandensein eines Vaginalpfropfens untersucht,  
15 positive Tiere durch zervikale Dislokation getötet und die Ovidukte entnommen. Die Eizellen werden aus den Ovidukten in M2 Medium entleert, die Cumuluszellen durch kurze Inkubation mit Hyaluronidase abgelöst, die Eizellen gründlich gewaschen und bis zur Mikroinjektion in mit Paraffinöl überschichtetem  
20 M16 Medium im Brutschrank (5 % CO<sub>2</sub>, 85 % Luftfeuchtigkeit, 37°C) aufbewahrt.

Die Injektion der DNA von Fig. 1 erfolgt am 4. Tag in der Regel in den männlichen Vorkern befruchteter Eizellen.  
25 Injizierte Eizellen werden anschließend im Brutschrank bis zum Retransfer am darauffolgenden Tag inkubiert. Zur Bereitstellung von pseudoschwangeren Fostermäusen werden am Abend vor der Mikroinjektion etwa 25 weibliche B6CBAF1 Mäuse im Alter von 8 bis 12 Wochen mit vasektomierten männlichen Mäusen  
30 verpaart. Am Morgen des 5. Tages werden die Tiere mit Vaginalpfropfen für den Retransfer der injizierten Eizellen ausgewählt. Die über Nacht kultivierten und zum Zweizellstadium proliferierten und mikroinjizierten Eizellen werden am 5. Tag reimplantiert. Dabei werden 10-15 Embryonen  
35 in das Infundibulum eines Oviduktes einer narkotisierten Fosterm Maus eingespült. 19-20 Tage nach Retransfer werden die implantierten Embryonen geboren. Es werden die in den Figuren 4-9 gezeigten Mäuse erhalten.

### Patentansprüche

- 5 1. Säugetier mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ (DCIS), wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält.
- 10 2. Säugetier nach Anspruch 1, wobei sich das DCIS zu invasivem duktalem Mammakarzinom entwickelt.
- 15 3. Säugetier nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Onkogen unter der Kontrolle des WAP-Promotors steht.
- 20 4. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-3, wobei das Onkogen eine für ein starkes T-Zell-Epitop kodierende Sequenz umfaßt.
- 25 5. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-4, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen ist.
- 30 6. Säugetier nach Anspruch 4 oder 5, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.
- 35 7. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-6, wobei die laktotropen Hormone Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.
8. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-7, wobei das Säugetier jenes der Figuren 4,5,6,7,8 oder 9 ist.
9. Verfahren zur Bereitstellung eines Säugetiers nach einem der Ansprüche 1-8, umfassend die folgenden Schritte:
  - (a) Einführung einer für ein Onkogen kodierenden DNA in befruchtete Oocyten eines Säugetiers, wobei die DNA unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist,
  - (b) Implantierung der Oocyten von (a) in pseudoschwa-

ngere Säugetiere, und

(c) Selektion der in (b) erhaltenen Nachkommen auf die Bildung eines DCIS.

- 5      10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei sich das DCIS zu invasivem ductalen Mammakarzinom entwickelt.
11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, wobei der Promotor der WAP-Promotor ist.
- 10      12. Verfahren nach einem der Ansprüche 9-11, wobei das Onkogen eine für ein starkes T-Zell-Epitop kodierende Sequenz umfaßt.
- 15      13. Verfahren nach einem der Ansprüche 9-12, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierende Gen ist.
14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.
- 20      15. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 - 14, wobei die laktotropen Hormone Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.
- 25      16. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 - 15, wobei die Nachkommen jene der Figuren 4,5,6,7,8 oder 9 sind.
17. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1-9 zur Untersuchung von DCIS, seiner Progression zu
- 30      invasivem ductalen Karzinom und letzterem.
18. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1-9 zur Forschung und Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika für ein DCIS bzw. ein invasives ductales
- 35      Karzinom.

### **Zusammenfassung**

#### **5        Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Säugetier mit induzierbarem ductalen Karzinom in situ (DCIS), wobei das  
10 Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält. Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines solchen Säugetiers sowie dessen Verwendung zur Untersuchung eines DCIS bzw. seiner Progression zu einem  
invasiven ductalen Mammakarzinom, sowie zur Entwicklung von  
15 diagnostischen bzw. therapeutischen Mitteln hierfür.

## SEQUENZPROTOKOLL

<110> Mice & More GmbH & Co. KG et al.

<120> Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung und  
seine Verwendung

<130> M 4357

<140> PCT/DE00/00232

<141> 2000-01-26

<150> DE 199 03 371.4

<151> 1999-01-28

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 39

<212> DNA

<213> LCM-Virus

<400> 1

gatacctaggc ctcaagcttc tggagtctac atggatcat

39

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> LCM-Virus

<400> 2

Asp Pro Arg Pro Gln Ala Ser Gly Val Tyr Met Asp His

13

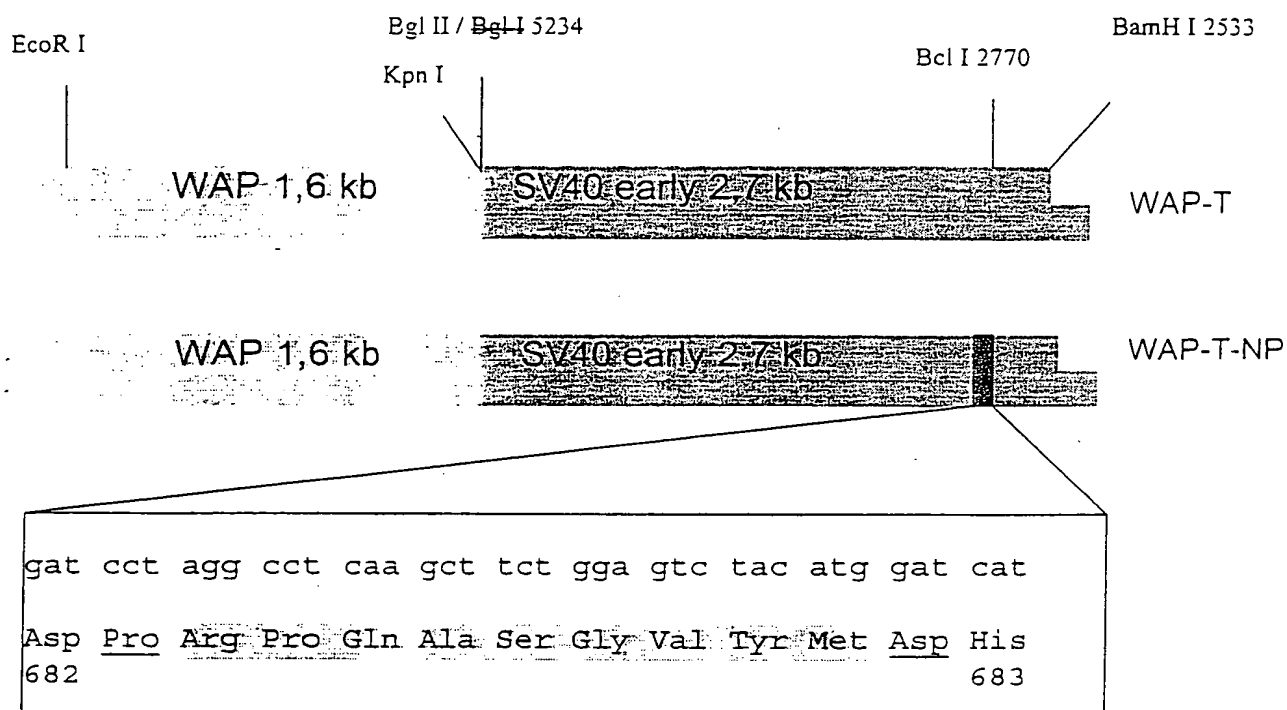


Fig. 1

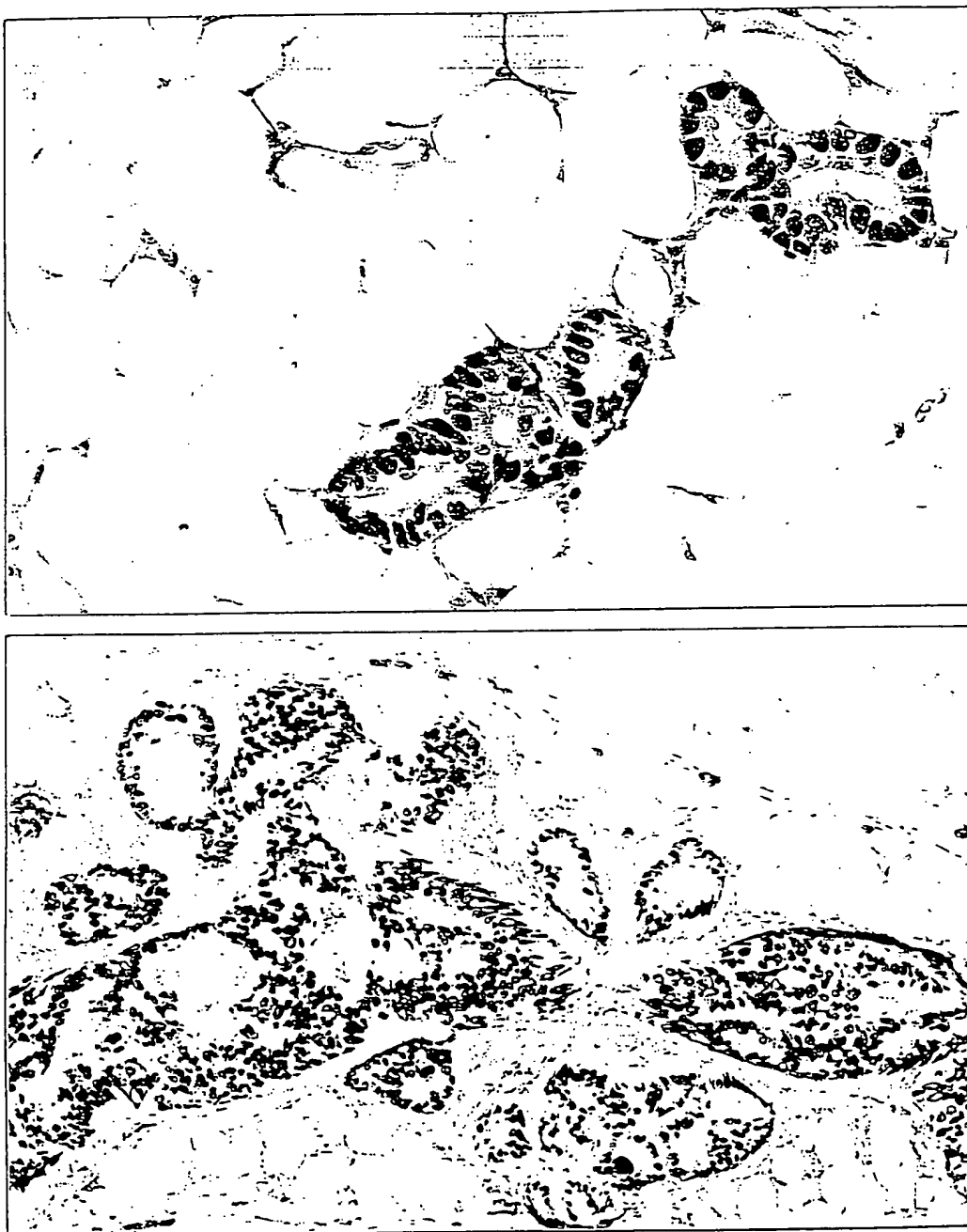


Fig. 2

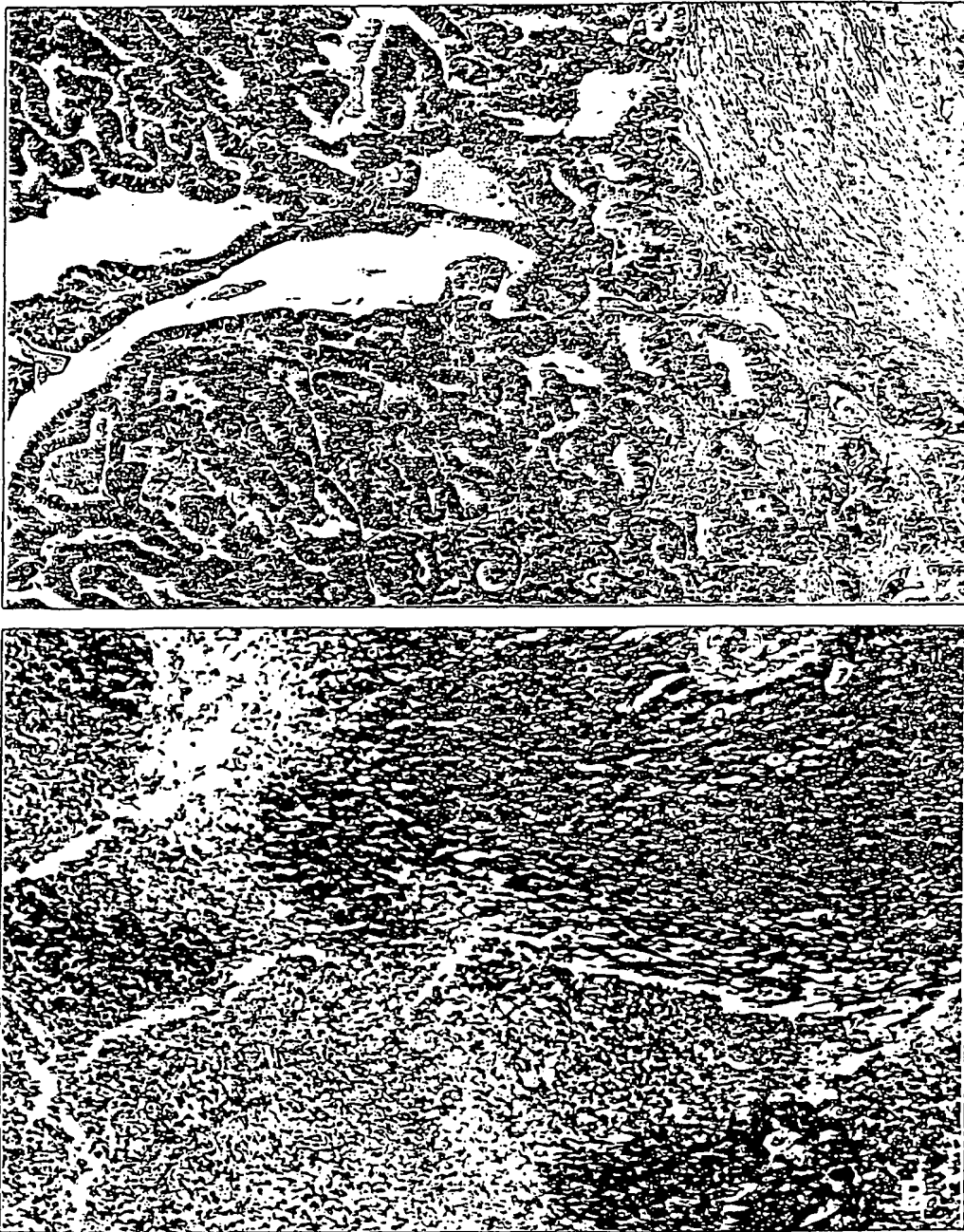


Fig. 3

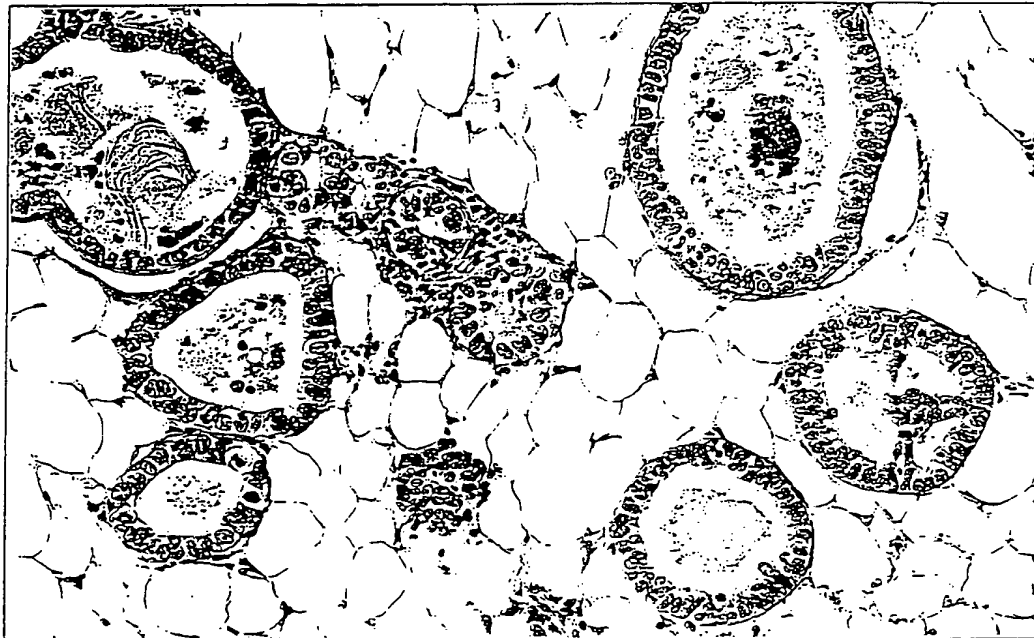


Fig. 4



Fig. 5

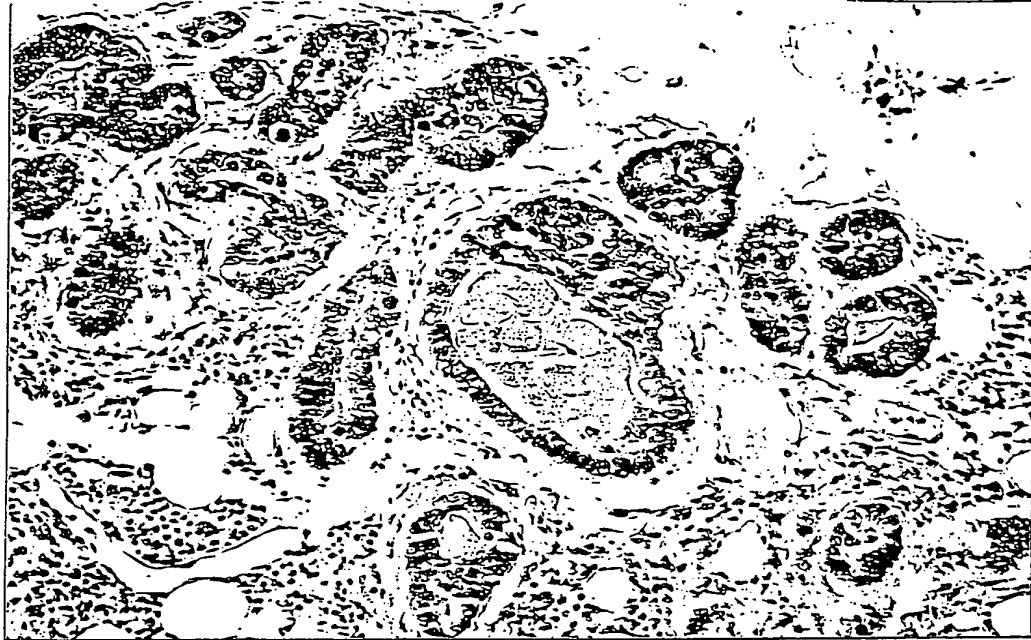


Fig. 6

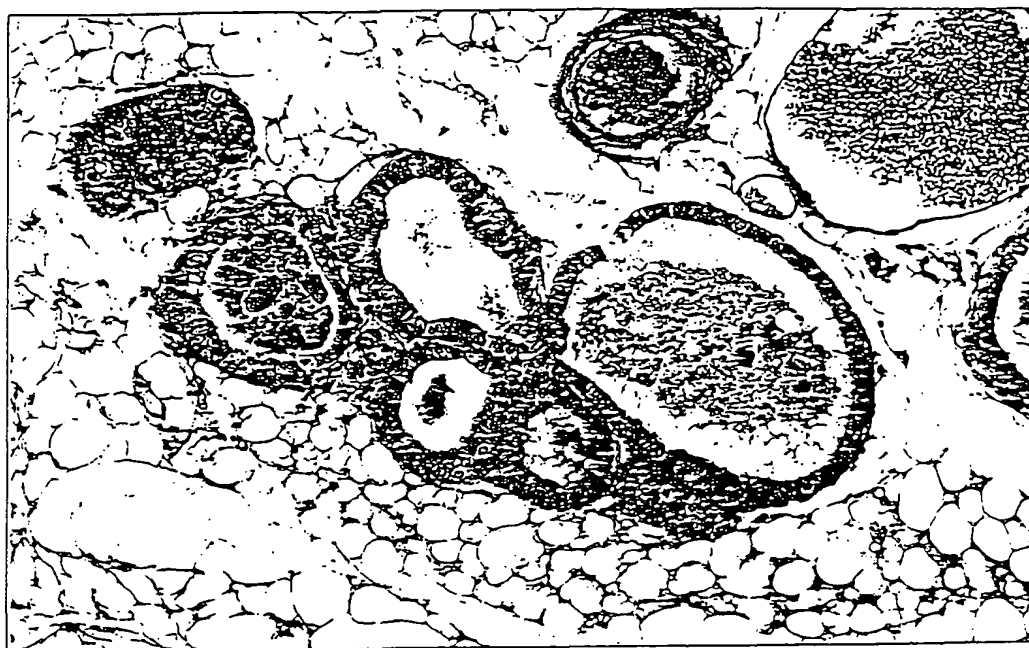


Fig. 7

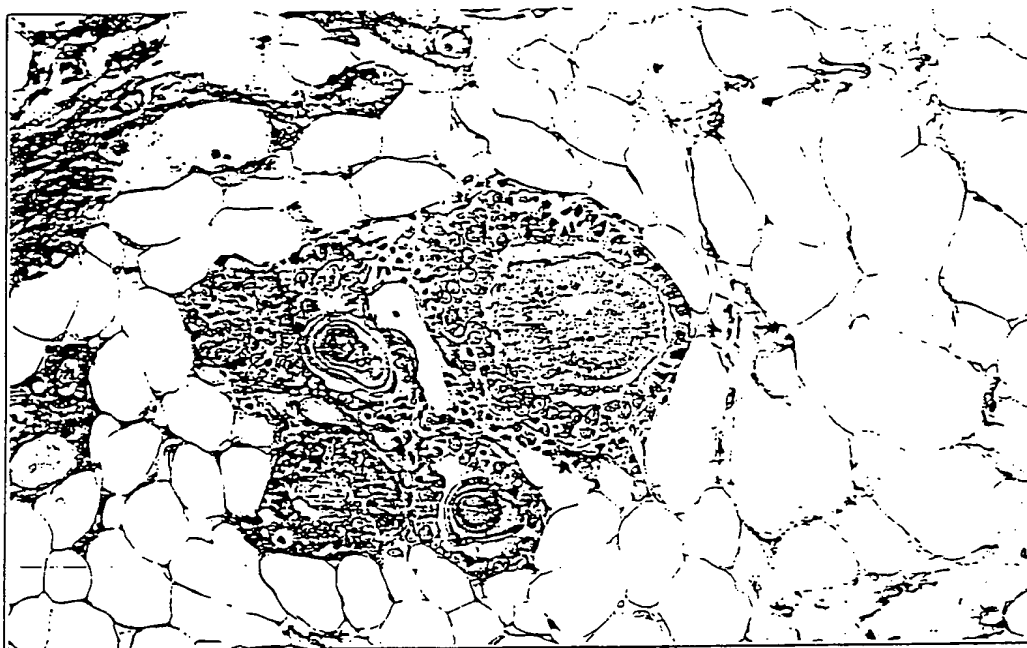


Fig. 8



Fig. 9

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

## PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES  
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS  
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

An

Huber & Schüssler  
z.H. HUBER, Bernard.  
Truderinger Strasse 246  
81825 München  
GERMANY

EINGEGANGEN

1 7. AUG. 2000

Erled. 21. 10. ....

Absenddatum  
(Tag/Monat/Jahr)

21/08/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

M 4357 Wd

**WEITERES VORGEHEN**

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/ 00232

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

26/01/2000

Anmelder

MICE & MORE GMBH & CO. KG et al.

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

**Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:**

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

**Bis wann sind Änderungen einzureichen?**

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

**Wo sind Änderungen einzureichen?**

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,  
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)(a) übermittelt wird.

3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90<sup>bis</sup> bzw. 90<sup>ter</sup> 3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrags nicht verbindlich ist.

Nam und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mireille Claudepierre

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

## HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

### Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

### Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

### Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

### In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu nummeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

### Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

#### Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:  
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:  
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:  
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt." Oder "  
Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:  
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

### "Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

### Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

### Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

# PCT

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>M 4357 Wd</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/ 00232</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>26/01/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>28/01/1999</b>
Anmelder  <b>MICE &amp; MORE GMBH &amp; CO. KG et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprach durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**SÄUGETIER MIT INDUZIERBAREM DUKTALEN KARZINOM IN SITU**

**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1



wie vom Anmelder vorgeschlagen



keine der Abb.



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/00 A01K67/027 C07K14/82 A61K49/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A01K C12N C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	TZENG, Y.J. ET AL.: "SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors." ONCOGENE, Bd. 16, Nr. 16, 23. April 1998 (1998-04-23), Seiten 2103-14, XP000929570 das ganze Dokument	1-5, 7-13, 15-18
X	ROBINSON, G.W. ET AL.: "Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators." DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Bd. 206, Nr. 2, 1996, Seiten 159-168, XP000929573 das ganze Dokument	1-5, 7-13, 15-18

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

1. August 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

21/08/2000

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Smalt, R

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 97 39117 A (UNIV LIVERPOOL ;RUDLAND PHILIP SPENCER (GB); BARRACLOUGH BARRY ROG) 23. Oktober 1997 (1997-10-23) das ganze Dokument	1,2,4,5, 8-10,12, 13,16
X	JÄGER, R. ET AL.: "Overexpression of Bcl-2 inhibits alveolar cell apoptosis during involution and accelerates c-myc-induced tumorigenesis of the mammary gland in transgenic mice." ONCOGENE, Bd. 15, Nr. 15, 9. Oktober 1997 (1997-10-09), Seiten 1787-95, XP000929569 das ganze Dokument	1,2,4, 8-10,12, 16-18
A	VAN DER MOST, R. G. ET AL.: "Ananalysis of cytotoxic T cell response to dominant and subdominant epitopes during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection." JOURNAL OF IMMUNOLOGY, Bd. 157, 1996, Seiten 5543-54, XP002143920 das ganze Dokument	4,6,12, 14
A	WO 97 09440 A (SALLER ROBERT MICHAEL ;SALMONS BRIAN (DE); GSF FORSCHUNGSZENTRUM U) 13. März 1997 (1997-03-13) das ganze Dokument	
T	SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: "A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ (DCIS) of the mammary gland." ONCOGENE, Bd. 19, Nr. 8, 21. Februar 2000 (2000-02-21), Seiten 1028-37, XP000929607 das ganze Dokument	1-18

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die derselben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/00232

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9739117	A	23-10-1997	AU	2572397 A	07-11-1997
			EP	0904363 A	31-03-1999
WO 9709440	A	13-03-1997	AU	6987696 A	27-03-1997
			EP	0848757 A	24-06-1998
			JP	11511979 T	19-10-1999

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PATENT 00/00232

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9739117 A	23-10-1997	AU 2572397 A EP 0904363 A	07-11-1997 31-03-1999
WO 9709440 A	13-03-1997	AU 6987696 A EP 0848757 A JP 11511979 T	27-03-1997 24-06-1998 19-10-1999

**Translation**

**PATENT COOPERATION TREATY**

**PCT**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

(PCT Article 36 and Rule 70)

9/889993

Applicant's or agent's file reference M 4357 Wd	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE00/00232	International filing date (day/month/year) 26 January 2000 (26.01.00)	Priority date (day/month/year) 28 January 1999 (28.01.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/00, A01K 67/027, C07K 14/82, A61K 49/00		
Applicant MICE & MORE GMBH & CO. KG		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>12</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 23 August 2000 (23.08.00)	Date of completion of this report 09 April 2001 (09.04.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/00232

## 1. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
pages 1-10, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages 1-16, filed with the letter of 04 December 2000 (04.12.2000)
- ☒ the drawings:  
pages 1/9-9/9, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☒ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/00232

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1-18.

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. \_\_\_\_\_  
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_  
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported  
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_.

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/DE00/00232

**IV. Lack of unity of invention**

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☒ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. \_\_\_\_\_

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES II, III and IV

**1. Citations**

This report makes reference to the following search report citations. Documents D8 and D9 were not indicated in the international search report. Copies of those documents are attached. The same numbering will be used in the further proceedings:

- D1: TZENG, Y.J. ET AL.: "SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors", ONCOGENE, Vol. 16, No. 16, 23 April 1998 (1998-04-23), pages 2103-2114
- D2: ROBINSON, G.W. ET AL.: "Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators", DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Vol. 206, No. 2, 1996, pages 159-168
- D3: WO-A-97/39117 (UNIV. LIVERPOOL; RUDLAND PHILIP SPENCER (GB)); BARRACLOUGH BARRY ROG), 23 October 1997 (1997-10-23)
- D4: JÄGER, R. ET AL.: "Overexpression of Bcl-2 inhibits alveolar cell apoptosis during involution and accelerates c-myc-induced tumorigenesis of the mammary gland in transgenic mice", ONCOGENE, Vol. 15, No. 15, 9 October 1997 (1997-10-09), pages 1787-1795
- D5: VAN DER MOST, R. G. ET AL.: "Analysis of cytotoxic T cell response to dominant and subdominant epitopes during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection", JOURNAL OF IMMUNOLOGY, Vol. 157, 1996, pages 5543-5554

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES II, III and IV

- D7: SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: "A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ of the mammary gland", ONCOGENE, Vol. 19, No. 8, 21 February 2000 (2000-02-21), pages 1028-1037
- D8: Tzeng, Yien-Jen et al.: "Breast cancer formation in transgenic animals induced by the whey acidic protein SV40 T antigen (WAP-SV-T) hybrid gene", Oncogene, Vol. 8, 1993, pages 1965-1971
- D9: Santarelli, R. et al.: SV40 T-antigen induces breast cancer formation with a high efficiency in lactating and virgin WAP-SV-T transgenic animals but with a low efficiency in ovariectomized animals", Oncogene, Vol. 12, 1996, pages 495-505.

**2. Content of the application**

The present application concerns transgenic mice containing a gene that can be activated by lactotropic hormones and showing an inducible ductal carcinoma *in situ* (DCIS). It describes mice who express the SV-40 T-antigen and the n118 epitope of the LCM-virus under the control of a "whey acidic protein" (WAP) promoter. It also describes methods for producing these mice and their use for diagnostic purposes.

**3. Box III**

**Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability**

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES II, III and IV

- 3.1 Claims 1-18 concern mammals without further definition, that is without excluding humans, and their production. They therefore concern a subject matter which, in the opinion of the Examiner, falls under PCT Rule 67.1(iv). Consequently, no opinion is established with regard to the industrial applicability of the claimed subject matter (PCT Article 34(4)(a)(i)).

**4. Box IV****Lack of unity of the invention**

The different inventions are:

- 1) Claims 1-5 (partly), 7-13 (partly), 15-18 (partly)

WAP-T1 mouse, methods for producing and using the mouse for examining DCIS or developing therapeutic agents for DCIS.

- 2) Claims 1-5 (partly), 7-13 (partly), 15-18 (partly)

WAP-T2 mouse, methods for producing and using the mouse for examining DCIS or developing therapeutic agents for DCIS.

- 3) Claims 1-5 (partly), 7-13 (partly), 15-18 (partly)

WAP-T10 mouse, methods for producing and using the mouse for examining DCIS or developing therapeutic agents for DCIS.

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES II, III and IV

4) Claims 1-5 (partly), 6, 7-13 (partly), 15-18 (partly)

WAP-T-NP6, WAP-T-NP8, WAP-T-NP10 mice, methods for producing and using the mice for examining DCIS or developing therapeutic agents for DCIS.

For the following reasons, these inventions are not so linked so as to form a single general inventive concept (PCT Rule 13.1):

Independent Claims 1, 9, 17 and 18 concern transgenic mice with inducible ductal carcinoma *in situ* containing an activatable oncogene, preferably a gene encoding for the SV40 T-Ag gene under the control of the WAP-promoter, methods for producing the mice and therapeutic uses.

The technical relationship between the claimed mice is that they are all characterised by inducible DCIS and contain an oncogene that can be activated by lactotropic hormones.

D1 describes transgenic mice who express the SV40 T antigen under the control of the WAP promoter. The analysis of those mice shows that they develop a carcinoma of the female mammary gland (page 2103; the abstract; pages 2104-2105). The same argument could also have been put forth on the basis of the content of D2.

As a result, the subject matter of independent Claim 1 and hence also the technical relationship between the independent claims is already known.

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: BOXES II, III and IV

The unity of invention required by PCT Rule 13.1 is therefore no longer established, since there is no technical relationship between the subjects of the above-mentioned inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features (PCT Rule 13.2).

Since the literature does not describe WAP-T-NP mice who specifically express the n118 epitope of the nucleoprotein of the LCM virus, the different mouse lines (WAP-T-NP-6, WAP-T-NP-8 and WAP-T-NP-10) are regarded as a single invention.

The applicant was invited to indicate which of the above-mentioned inventions should be examined and to restrict the claims accordingly or pay additional fees.

The applicant has paid under protest the examination of the four inventions and at the same time submitted new claims. Since this is not provided for in the PCT procedure, the originally submitted claims were examined. Furthermore, an analysis of the newly submitted claims indicated that the objections raised to the original set of claims apply *mutatis mutandis* to the new set of claims, and therefore this set also lacks unity of invention, although it is subdivided into other groups of claims.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/DE 00/00232

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	6, 8, 14, 16-18	YES
	Claims	1-5, 7, 9-13, 15	NO
Inventive step (IS)	Claims	8, 16-18	YES
	Claims	1-7, 9-15	NO
Industrial applicability (IA)	Claims		YES
	Claims	1-18: no opinion	NO

### 2. Citations and explanations

5.1 D1 and D2 describe WAP-SV40-T/t transgenic mice who express the SV40-T/t antigen under the control of the WAP promoter and have been generated with the same WAP-SV40 T-Ag construct as the claimed animals (as shown by the applicant himself in the subsequently published document D7; see page 1036 and "Material and Methods"). Since the WAP promoter is specifically activated by lactotropic hormones (such as oestrogen, progesterone, prolactin, insulin and glucocorticoids), the expression of the SV40 T-Ag can be specifically induced by these hormones when they are secreted in the body of the transgenic animals (e.g. during pregnancy or the lactation period).

In D1, the analysis of the mice shows that they develop a carcinoma of the female mammary gland after their first lactation (page 2103; the Abstract; pages 2104-2105). Consequently, D1 already describes mammals with inducible ductal carcinoma and containing an oncogene activatable by lactotropic hormones (see also the other publications of the same working group: D8, pages 1965-1968; and D9: pages 497-499).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.  
PCT/DE 00/00232

It is known to a person skilled in the art (and also described in D7, page 1036) that when transgenic mice are produced, a palette of phenotypes can always be produced, depending on the genetic background of the mice used, the integration site of the transgene and the number of copies of the transgene. It can therefore be expected that when sufficient transgenic animals are analysed each phenotype will be represented. Even if in D1 the WAP-T-Ag transgenic mice have not been histologically examined for DCIS specifically, at least some of these mice must have shown this specific preliminary stage of mammary carcinoma, since those mice are characterised by exactly the same technical features as the WAP-T-Ag mice of the application.

Claim 4 concerns an oncogene with a "strong T-cell epitope". This expression is vague and also comprises to a person skilled in the art the SV40-T antigen, since this epitope can also induce a specific immune reaction. The content of D1 is therefore prejudicial to the novelty of Claims 1-5 and 7 (PCT Article 33(1) and (2)).

5.2 D3 describes different transgenic animals and corresponding cell lines. It describes, inter alia, rats who express a transgenic MMTVLTR-TGFA gene. The MMTVLTR promoter, like the WAP promoter, is specific to the mammary gland and is activated by the hormones secreted during pregnancy. The rats who express the TGFA oncogene were histologically examined and show different types of tumours, inter alia DCIS, or also more advanced tumours (page 51, line 26 - page 55, line 28). The same applies to the

MMTVLTR-c-erb-2 transgenic animals, some of whom also show DICS (page 55, line 28 - page 59, line 20; and Fig. 8f).

D3 is therefore prejudicial to the novelty of the subject matter of Claims 1, 2 and 7 (PCT Article 33(1) and (3)).

In addition, D3 also describes MMTVLTR-tsa58 transgenic animals who express the SV40 T antigene in the mammary gland, depending on temperature; however, the analysis of the phenotype of those animals is not more extensively described (page 21, line 25 - page 29, line 18).

- 5.3 The production of transgenic mice is a standard method well known to the experts and which today no longer presents any technical difficulties. The production of transgenic animals who express an oncogene is also described in D8 (page 1970), D3 (page 13, lines 15-30) and D4 (page 1793). As already mentioned, in D3 the MMTVLTR-TGF $\alpha$  transgenic animals were also screened for DCIS.

Consequently, the subject matter of Claims 9-13 and 15 is not novel (PCT Article 33(1) and (2)).

- 5.4 Claims 6 and 14 concern transgenic mice who express a fusion protein comprising the SV40 T-Ag and the n118 epitope of the LCM virus, as well as their production.

Such transgenic animals are not described in the prior art.

The subject matter of Claims 6 and 14 is therefore novel (PCT Article 33(1) and (2)).

Even if D1-D4 describe transgenic mice who express an oncogene, none of those documents suggests the specific production of transgenic mice who express a n118 epitope of the LCM virus. Nevertheless, for the following reasons, it is not clear to what extent the subject matter of Claims 6 and 14 involves an inventive step (PCT Article 33(3)):

The object of the application appears to be the production of a transgenic animal model for examining DCIS. The question is raised of what are the advantages of the transgenic animals who express the n118 epitope in comparison with animals who express only the SV40 T-Ag, and of whether they make any additional contribution to the solution of the problem, since no significant difference can be recognised between the phenotypes of the WAP-T-NP and WAP-T mice.

The subject matter of Claims 6 and 14 therefore does not appear for the time being to be inventive (PCT Article 33(1) and (3)).

- 5.5 Claims 17 and 18 concern the use of these transgenic mice for examining DCIS and for developing diagnostic markers and therapeutic agents.

Even if transgenic mice having the same technical features as the claimed mice are known from the prior art (see above), these mice have never been recognised as animal models for DCIS. In the citations D1-D4 the focus of the analysis of the

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/DE 00/00232

transgenic animals lies on mature mammary carcinoma, rather than on the earlier stages of the diseases. Consequently, the use of these mice for screening for DCIS is novel and inventive (PCT Article 33(1)-(3)).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/DE 00/00232

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

- 6.1 Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite documents D1-D3 and does not indicate the relevant prior art disclosed therein.

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

7.1 The expression used in Claims 4 and 1, "strong T-cell epitope", is vague and unclear and leaves the reader in doubt about the meaning of the technical feature in question. As a result, the definition of the subject matter of these claims is not clear (PCT Article 6).

7.2 The expression "n118 epitope" used in Claims 6 and 14 does not have a generally recognised meaning. As a result, the definition of the subject matter of these claims is not clear. These claims should indicate the sequence of this epitope (PCT Article 6).

Moreover, the pWAP-T-NP DNA has not been deposited (PCT Rule 13bis), contrary to the applicant's statement on page 7, lines 23-27. The examiner could not find in the DSMZ the DSM number indicated. The different mouse lines have not been deposited either.

7.3 Claims 8 and 16 contain references to the figures. PCT Rule 6.2(a) stipulates that the claims may contain references only when absolutely necessary, which is not the present case. Moreover, these claims concern mice and their production, although the figures to which these claims refer only show cells.

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M 4357 Wd	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00232	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 26/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 28/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/00		
Anmelder MICE & MORE GMBH & CO. KG et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 12 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  23/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  09.04.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Trommsdorff, M  Tel. Nr. +49 89 2399 7361  

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-10                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-16                      eingegangen am                      04/12/2000    mit Schreiben vom                      04/12/2000

**Zeichnungen, Blätter:**

1/9-9/9                      ursprüngliche Fassung

**Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:**

1, eingereicht mit Schreiben vom 26.05.00.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:
- ☐ Ansprüche,      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 1-18.

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
  - ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
  - ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
  - ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
  - ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

**IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:
  - ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
  - ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
  - ☒ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
  - ☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
  - ☐ erfüllt ist
  - ☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:  
**siehe Beiblatt**
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
  - ☒ alle Teile.
  - ☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	6, 8, 14, 16-18
	Nein: Ansprüche	1-5, 7, 9-13, 15
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	8, 16-18
	Nein: Ansprüche	1-7, 9-15
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-18: no opinion

**2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**

## **1. Zitierte Dokumente**

In diesem Bescheid werden folgende, im Recherchenbericht zitierte Dokumente (D) genannt. Die Dokumente D8 und D9 wurden im internationalen Recherchenbericht nicht angegeben. Kopien der Dokumente liegen bei. Die Numerierung wird auch im weiteren Verfahren beibehalten:

- D1: TZENG, Y.J. ET AL.: 'SV40 T/t-antigen induces premature mammary gland involution by apoptosis and selects for p53 missense mutation in mammary tumors.' ONCOGENE, Bd. 16, Nr. 16, 23. April 1998 (1998-04-23), S.2103-14
- D2: ROBINSON, G.W. ET AL.: 'Understanding mammary gland development through the imbalanced expression of growth regulators.' DEVELOPMENTAL DYNAMICS, Bd. 206, Nr. 2, 1996, S.159-168
- D3: WO 97 39117 A (UNIV LIVERPOOL ;RUDLAND PHILIP SPENCER (GB); BARRACLOUGH BARRY ROG) 23. Oktober 1997 (1997-10-23)
- D4: JÄGER, R. ET AL.: 'Overexpression of Bcl-2 inhibits alveolar cell apoptosis during involution and accelerates c-myc-induced tumorigenesis of the mammary gland in transgenic mice.' ONCOGENE, Bd. 15, Nr. 15, 9. Oktober 1997 (1997-10-09), S. 1787-95
- D5: VAN DER MOST, R. G. ET AL.: 'Analysis of cytotoxic T cell response to dominant and subdominant epitopes during acute and chronic lymphocytic choriomeningitis virus infection.' JOURNAL OF IMMUNOLOGY, Bd. 157, 1996, S. 5543-54
- D7: SCHULTZ-GARG, C. ET AL.: 'A transgenic mouse model for the ductal carcinoma in situ of the mammary gland.' ONCOGENE, Bd.19, Nr.8, 21Feb 2000 (2000-02-21), S.1028-37
- D8: Tzeng, Yin-Jeh et al.: *Breast cancer formation in transgenic animals induced by the whey acidic protein SV40 T antigen (WAP-SV-T) hybrid gene.* Oncogene.Bd. 8, 1993, S.1965-71
- D9: Santarelli, R. et al.: *SV40 T-antigen induces breast cancer formation with a high efficiency in lactating and virgin WAP-SV-T transgenic animals but with a low efficiency in ovariectomized animals.* Oncogene.Bd. 12, 1996, S.495-505

## **2. Inhalt der Anmeldung**

Die vorliegende Anmeldung betrifft transgene Mäuse, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Gen enthalten und ein induzierbares ductales Karzinom in situ (DCIS) vorweisen. Beschrieben sind Mäuse, die das SV-40 T-Antigen und das n118 Epitop des LCM- Virus unter der Kontrolle eines "whey acidic protein" (WAP) Promoters exprimieren. Ferner sind Methoden zur Herstellung dieser Mäuse und ihre Anwendung für diagnostische Zwecke beschrieben.

**3. Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

- 3.1. Die Ansprüche 1-18 beziehen sich auf Säugetiere ohne genauere Definition, das heißt ohne, daß der Mensch davon ausgeschlossen wird, oder auf deren Herstellung. Sie beziehen sich somit auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands der Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

**4. Zu Punkt IV**

**Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

Die verschiedenen Erfindungen sind:

1) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T1 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

2) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T2 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

3) Ansprüche 1-5 (teilweise), 7-13 (teilweise), 15-18 (teilweise)

WAP-T10 Maus, Verfahren zur Bereitstellung der Maus und Verwendung der Maus zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

4) Ansprüche 1-5 (teilweise), 6, 7-13 (teilweise), 14, 15-18 (teilweise)

WAP-T-NP6, WAP-T-NP8, WAP-T-NP10 Mäuse, Verfahren zur Bereitstellung der Mäuse und Verwendung der Mäuse zur Untersuchung von DCIS oder zur Entwicklung von Therapeutika für DCIS.

Aus den folgenden Gründen hängen diese Erfindungen nicht so zusammen, daß sie eine einzige allgemeine erfinderische Idee verwirklichen (Regel 13.1 PCT):

Die unabhängigen Ansprüche 1, 9, 17 und 18 betreffen transgene Mäuse mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ, die ein aktivierbares Onkogen enthalten, bevorzugterweise, ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen unter der Kontrolle des WAP- Promoters, Methoden zur Herstellung der Mäuse und therapeutische Anwendungen.

Der technische Zusammenhang zwischen den beanspruchten Mäusen ist, daß sie alle durch induzierbarem DICS charakterisiert sind und ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthalten.

D1 beschreibt transgene Mäuse, die das SV40 T Antigen unter der Kontrolle des WAP Promoters exprimieren. Die Analyse dieser Mäuse zeigt, daß sie ein Karzinom der weiblichen Brustdrüse entwickeln (S. 2103, Abstract, S. 2104-05). (Die gleiche Argumentation hätte auch basierend auf dem Inhalt von D2 geführt werden können.)

Daraus folgt, daß der Gegenstand des unabhängigen Anspruchs 1 und somit auch der technische Zusammenhang zwischen den unabhängigen Ansprüchen bereits bekannt ist. Die erforderliche Einheitlichkeit der Erfindung (Regel 13.1 PCT) ist damit insofern nicht mehr gegeben, als zwischen den Gegenständen der oben genannten Erfindungen kein technischer Zusammenhang im Sinne der Regel 13.2 PCT besteht, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt.

Da WAP-T-NP Mäuse, die spezifisch das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus exprimieren, nicht in der Literatur beschrieben sind, werden die verschiedenen Mauslinien (WAP-T-NP-6, -8 und -10) als eine Erfindung betrachtet.

Der Anmelder wurde dazu aufgefordert anzugeben, welche der oben genannten Erfindungen geprüft werden soll, und die Ansprüche entsprechend einzuschränken oder zusätzliche Gebühren zu zahlen.

Der Anmelder hat unter Widerspruch für die Prüfung der vier Erfindungen bezahlt und gleichzeitig neue Ansprüche eingereicht. Da dies im PCT Verfahren nicht vorgesehen ist, wurden die ursprünglich eingereichten Ansprüche geprüft.

(Desweiteren ergab eine Analyse der neu eingereichten Ansprüche, daß die für den ursprünglichen Anspruchsatz gemachten Einwände- mutatis mutandis- auf

diesen Anspruchsatz anzuwenden sind, sodaß auch dieser Satz uneinheitlich ist und sich nur in anderen Gruppen von Ansprüchen aufgliedert.)

**5. Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

- 5.1. D1 und D2 beschreiben WAP-SV40-T/t transgene Mäuse, die das SV40-T/t Antigen unter der Kontrolle des WAP Promoters exprimieren und mit dem gleichen WAP-SV40 T-Ag Konstrukt generiert wurden, wie die Tiere in der Anmeldung (wie von den Anmeldern selbst im später veröffentlichten Dokument D7 gezeigt wird, siehe S. 1036 und Material and Methods). Da der WAP Promoter spezifisch durch laktotrope Hormone (wie z.B. Oestrogen, Progesteron, Prolaktin, Insulin und Glukokortikoide) aktiviert wird, kann die Expression des SV40 T-Ag spezifisch durch diese Hormone induziert werden, wenn sie im Körper der transgenen Tiere ausgeschüttet werden (z. B. während der Schwangerschaft oder Laktationsperiode).

In D1 zeigt die Analyse der Mäuse, daß sie nach der ersten Laktation ein Karzinom der weiblichen Brustdrüse entwickeln (S. 2103, Abstract, S. 2104-05). Somit sind Säugetiere mit induzierbarem duktalem Karzinom, die ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthalten, bereits in D1 beschrieben. (Siehe auch weitere Veröffentlichungen der gleichen Arbeitsgruppe D8: S. 1965-68 und D9: S. 497-99).

Es ist dem Fachmann bekannt (und auch in D7 nochmals beschrieben, S. 1036), daß bei der Herstellung transgener Mäuse immer eine Palette von Phänotypen entstehen kann, abhängig vom genetischen Hintergrund der verwendeten Mäuse, der Integrationstelle des Transgens und der Anzahl der Kopien des Transgens. Es ist also zu erwarten, daß wenn genug transgene Tiere analysiert werden, jeder Phänotyp vertreten ist. Auch wenn in D1 die WAP-T-Ag transgenen Mäuse nicht speziell auf DCIS histologisch untersucht wurden, muss zumindest ein Teil dieser Mäuse dieses spezifische Vorstadium von Mammarkarzinom vorgewiesen haben, da diese Mäuse durch die exakt gleichen technischen Merkmale charakterisiert sind wie die WAP-T-Ag Mäuse der Anmeldung.

Anspruch 4 betrifft ein Onkogen mit einem "starken T-Zell Epitop". Dieser Begriff

ist vage und umfaßt in den Augen des Fachmanns durchaus auch das SV40-T-Antigen, da dieses Epitop auch eine spezifische Immunreaktion bewirken kann. Somit ist der Inhalt von D1 neuheitsschädigend für die Ansprüche 1-5 und 7 (Art. 33(1) und (2) PCT).

- 5.2. D3 beschreibt verschiedene transgene Tiere und entsprechende Zelllinien. Unter anderem werden Ratten beschrieben, die ein transgenes MMTVLTR-TGFa Gen exprimieren. Der MMTVLTR Promoter ist wie der WAP-Promoter spezifisch für die Milchdrüsen und wird durch die, während der Schwangerschaft ausgeschütteten Hormone aktiviert. Die Ratten, die das TGFa Onkogen exprimieren, wurden histologisch untersucht und weisen verschiedene Tumorarten auf, unter anderem DICS oder auch weiter fortgeschrittene Tumore (S. 51, Z. 26- S. 55, Z. 28). Das Gleiche gilt für die MMTVLTR-c-erb-2 transgenen Tiere, die auch teilweise DICS vorweisen (S. 55, Z. 28- S.59, Z. 20 und Fig. 8f).

Somit ist D3 neuheitsschädigend für den Gegenstand der Ansprüche 1, 2 und 7 (Art. 33(1) und (2) PCT).

D3 beschreibt übrigens auch MMTVLTR-tsA58 transgene Tiere, die Temperaturabhängig das SV40 T Antigen in der Brustdrüse exprimieren, die Analyse des Phänotyps dieser Tiere wird jedoch nicht ausführlicher beschrieben (S. 21, Z.25- S. 29, Z.18).

- 5.3. Die Herstellung transgener Mäuse ist ein Standard Verfahren, das unter Fachmenschen gut bekannt ist und heutzutage keine technischen Schwierigkeiten mehr bereitet. Die Herstellung transgener Tiere, die ein Onkogen exprimieren, ist auch in D8 (S. 1970), D3 (S. 13, Z. 15- 30) und D4 (S. 1793) beschrieben.

Wie bereits erwähnt, wurden in D3 die MMTVLTR-TGFa transgenen Tiere auch auf DCIS untersucht.

Demzufolge, ist der Gegenstand der Ansprüche 9-13 und 15 nicht neu (Art. 33(1) und (2) PCT).

- 5.4. Ansprüche 6 und 14 betreffen transgene Mäuse, die ein Fusionsprotein exprimieren, das das SV40 T-Ag und das n118 Epitop des LCM-Virus umfaßt und deren Herstellung.

Solche transgenen Tiere sind im Stand der Technik nicht beschrieben.

Somit ist der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 neu (Art. 3(1) und (2) PCT).

Auch wenn D1-D4 transgene Mäuse beschreiben, die ein Onkogen exprimieren, weist keines dieser Dokumente auf die spezifische Herstellung von transgenen Mäusen, die ein n118 Epitop des LCM- Virus exprimieren, hin.

Dennoch ist aus folgenden Gründen nicht klar, inwiefern der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 auf erfinderischer Tätigkeit beruht (Artikel 33(3) PCT):

Die Zielsetzung dieser Anmeldung scheint die Herstellung eines transgenen Tiermodells zur Untersuchung von DCIS zu sein. Es stellt sich die Frage, was für Vorteile die transgenen Tiere die das n118 Epitop exprimieren, gegenüber den Tieren, die nur das SV40 T-Ag exprimieren, haben und ob sie zusätzliche Erkenntnisse zur Lösung des Problems beitragen, da kein erheblicher Unterschied zwischen dem Phänotyp der WAP-T-NP und WAP-T Mäuse erkennbar ist.

Somit scheint der Gegenstand der Ansprüche 6 und 14 bis auf weiteres nicht erfinderisch zu sein (Art. 33(1) und (3) PCT).

- 5.5. Ansprüche 17 und 18 betreffen die Verwendung dieser transgenen Mäuse zur Untersuchung von DCIS und zur Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika.

Auch wenn transgene Mäuse mit den gleichen technischen Merkmalen, wie die beanspruchten Mäuse, im Stand der Technik bekannt sind (siehe oben), wurden diese Mäuse nie als Tiermodell für DCIS erkannt. In den bereits zitierten Dokumenten D1-D4 liegt bei der Analyse der transgenen Tiere der Fokus viel mehr auf den ausgewachsenen Mammarkarzinomen als auf den früheren Stadien der Erkrankung. Demzufolge, ist die Verwendung dieser Mäuse zur Untersuchung für DCIS neu und erfinderisch (Art. 33(1)-(3) PCT).

## **6. Zu Punkt VII**

### **Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

- 6.1. Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

**7. Zu Punkt VIII**

**Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

- 7.1. Der in den Ansprüchen 4 und 12 benutzte Ausdruck "starkes T-Zell Epitop" ist vage und unklar und läßt den Leser über die Bedeutung des betreffenden technischen Merkmals im Ungewissen. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands dieser Ansprüche nicht klar ist (Artikel 6 PCT).
- 7.2. Der in den Ansprüchen 6 und 14 benutzte Begriff "n118 Epitop" hat keine allgemein anerkannte Bedeutung. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands dieser Ansprüche nicht klar ist. Die Sequenz dieses Epitops sollte in diesen Ansprüchen angegeben werden (Artikel 6 PCT).  
Desweiteren, wurde die pWAP-T-NP DNA im Gegensatz zu den Behauptungen des Anmelders (siehe S. 7, Zeilen 23-27) nicht hinterlegt (Regel 13 bis PCT). Der Prüfer konnte die angegebene DSM Nummer bei der DSMZ nicht finden.  
Die unterschiedlichen Mauslinien wurden auch nicht hinterlegt.
- 7.3. Die Ansprüche 8 und 16 enthalten Bezugnahmen auf Figuren. Gemäß Regel 6.2 a) PCT dürfen Ansprüche nur dann Bezugnahmen enthalten, wenn dies unbedingt erforderlich ist, was hier nicht der Fall ist. Außerdem betreffen diese Ansprüche Mäuse und ihre Herstellung, obwohl die Abbildungen, auf die sich diese Ansprüche beziehen, nur Zellen zeigen.

PCT/DE00/00232

Anwaltsakte: M 4357 - hu / st

**Patentansprüche**

1. Säugetier mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ (DCIS), wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält, das eine für ein starkes T-Zell-Epitop kodierende Sequenz umfaßt.
- 5 2. Säugetier nach Anspruch 1, wobei das Onkogen unter der Kontrolle des WAP-Promotors steht.
3. Säugetier nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen ist.
- 10 4. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.
5. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Säugetier aus jenen der Figuren 7, 8 und 9 ausgewählt ist.
- 15 6. Säugetier mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ (DCIS) wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält und aus jenen der Figuren 4, 5 und 6 ausgewählt ist.
- 20 7. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei sich das DCIS zu invasivem duktalem Mammakarzinom entwickelt.
8. Säugetier nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die laktotropen Hormone Östrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.
- 25

9. Verfahren zur Bereitstellung eines Säugetiers nach einem der Ansprüche 1 bis 5, umfassend die folgenden Schritte:

- 5 (a) Einführung einer für ein Onkogen kodierenden DNA in befruchtete Oocyten eines Säugetiers, wobei die DNA unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist,
- (b) Implantierung der Oocyten von (a) in pseudoschwangere Säugetiere, und
- 10 (c) Selektion der in (b) erhaltenen Nachkommen auf die Bildung eines DCIS.

10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei der Promotor der WAP-Promotor ist.

15 11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen ist.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 11, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.

20

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 12, wobei die laktotropen Hormone Östrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 13, wobei sich das DCIS zu invasivem ductalen Mammakarzinom entwickelt.

25

15. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1 bis 8, zur Untersuchung von DCIS, seiner Progression zu invasivem duktalem Karzinom und letzterem.

30

16. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1 bis 8 zur Forschung und Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika für DCIS bzw. ein invasives duktales Karzinom.

Unser Zeichen: M 4357 - hu / wd

### **Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Säugetier, in dem ein  
5        duktales Karzinom in situ (DCIS) der weiblichen Brustdrüse  
induziert werden kann.. Ferner betrifft die Erfindung ein  
Verfahren zur Herstellung eines solchen Säugetiers sowie  
dessen Verwendung zur Untersuchung eines DCIS bzw. seiner  
Progression zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom, sowie  
10        zur Entwicklung von diagnostischen bzw. therapeutischen  
Mitteln hierfür.

Das Mammakarzinom ist mit einer Häufigkeit von ca. 10 % in der  
weiblichen Bevölkerung eines der drängenden  
15        Gesundheitsprobleme unserer Zeit. Etwa 80 % der Mammakarzinome  
sind invasive ductale Mammakarzinome. Bei Mammographien werden  
häufig Mammatumoren vom Typ eines ductalen Karzinoms in situ  
(DCIS) diagnostiziert. Dieses kennzeichnet sich durch eine  
nicht-invasive, d.h. die Basalmembran noch nicht  
20        durchbrechende, neoplastische Vermehrung von Epithelzellen in  
das Lumen der ductulo-lobulären Einheit des Milchdrüsensy-  
stems. Ein DCIS kann sich zu einem invasiven ductalen  
Mammakarzinom entwickeln. Die molekularen Ursachen hierfür  
sind allerdings nicht bekannt. Ebensowenig ist eine Vorhersage  
25        möglich, ob und wann eine solche Entwicklung entritt. Als  
Folge hiervon wird bei der Diagnose eines DCIS der weiblichen  
Brust meist eine radikale Mastektomie, d.h. vollständige  
Entfernung der weiblichen Brust und regionärer Lymphknoten,  
durchgeführt. Schätzungen ergeben allerdings, daß etwa 60 %  
30        der radikalen Mastektomien eine Übertherapierung darstellen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde,  
ein Mittel bereitzustellen, mit dem die molekularen Ursachen  
eines DCIS, insbesondere seiner Progression zu einem invasiven  
ductalen Mammakarzinom, untersucht und gegebenenfalls Wege  
35